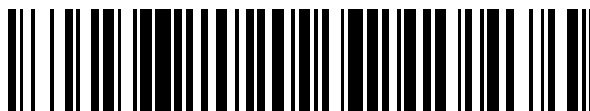


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 618 543**

51 Int. Cl.:

G01N 33/50 (2006.01)

G01N 33/68 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **21.11.2006** **PCT/US2006/045148**

87 Fecha y número de publicación internacional: **31.05.2007** **WO07062090**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.11.2006** **E 06838235 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **14.12.2016** **EP 1952150**

54 Título: **Métodos y composiciones relacionados con ensayos de linfocitos B**

30 Prioridad:

23.11.2005 US 739266 P

10.11.2006 US 857925 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la
traducción de la patente:
21.06.2017

73 Titular/es:

GENENTECH, INC. (100.0%)

1 DNA WAY

SOUTH SAN FRANCISCO, CA 94080-4990, US

72 Inventor/es:

FLAVIUS, MARTIN

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 618 543 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

Métodos y composiciones relacionados con ensayos de linfocitos B

5 Campo de la invención

La presente invención se refiere a nuevos métodos de tratamiento de enfermedades y de control de los niveles de linfocitos B en sujetos, y a kit y composiciones relacionados con los mismos.

10 Antecedentes de la invención

Las terapias dirigidas a reducir los linfocitos B han demostrado ser útiles en el tratamiento de una amplia variedad de enfermedades mediadas por los linfocitos B. Por ejemplo, el rituximab, el anticuerpo RITUXAN®, que es un anticuerpo monoclonal murino/humano quimérico diseñado por ingeniería genética dirigido contra el antígeno CD20 humano (disponible en el mercado en Genentech, Inc., South San Francisco, California, EE.UU.) se usa para el tratamiento de los pacientes con linfoma no-Hodgkin de linfocitos B, positivo en CD20, de recaída, refractario de bajo grado o folicular. Los resultados de los ensayos clínicos y estudios de casos realizados con rituximab (Biogen Idec, Cambridge, MA, EE.UU. y Genentech, South San Francisco, CA, EE.UU.) informan de beneficios terapéuticos no solo en pacientes con lupus eritematoso sistémico (LES), artritis reumatoide (AR) y síndrome de Sjögren (SS), sino también en pacientes con enfermedades autoinmunes menos comunes tales como dermatomiositis refractaria, crioglobulinemia mixta de tipo II, granulomatosis de Wegener, anemia hemolítica autoinmune, trombocitopenia idiopática y polineuropatías de inmunoglobulina M (IgM) (Gorman C, *et al.*, (2003) *Arthritis Res Ther* 5:S17-S21; Somer B. G., *et al.*, (2003) *Arthritis Rheum* 49:394-398).

En la actualidad, la actividad de las terapias de agotamiento de los linfocitos B en sujetos a veces se controla midiendo los niveles de linfocitos B reales en sangre durante el agotamiento y la repleción (recuperación) de los linfocitos B. Como alternativa o además, la actividad de las terapias de agotamiento de los linfocitos B ha sido evaluada mediante el seguimiento de los marcadores en sangre tradicionalmente asociados con la enfermedad. Por ejemplo, para ciertas enfermedades autoinmunes, se han controlado los autoanticuerpos tales como los anticuerpos de ADN bicatenario. Ninguno de estos métodos da una visión clara y contemporánea de la población de linfocitos B en otras zonas del sujeto. La obtención de biopsias de tejidos (por ejemplo, del bazo, de los ganglios linfáticos y de las articulaciones) de los pacientes o la evaluación de otro fluido corporal (por ejemplo, líquido cefalorraquídeo, líquido sinovial) suele ser una opción, o como poco, un inconveniente.

Un polipéptido que se eleva en varias enfermedades autoinmunes, tales como el lupus eritematoso sistémico, la artritis reumatoide y el síndrome de Sjögren, es el polipéptido BAFF (Cheema, G. S, *et al.*, (2001) *Arthritis Rheum*. 44:1313-1319; Groom, J., *et al.*, (2002) *J. Clin. Invest.* 109:59-68; Zhang, J., *et al.*, (2001) *J. Immunol.* 166:6-10). BAFF (también conocido como BLyS, TALL-1, THANK, TNFSF13B o ztnf4) es un miembro de la superfamilia de ligandos de TNF, que es esencial para la supervivencia y la maduración de los linfocitos B (revisado en Mackay y Browning (2002) *Nature Rev. Immunol.* 2:465-475). BAFF se puede encontrar en forma secretada o en la superficie celular de los monocitos, macrófagos, células dendríticas y neutrófilos, pero no en los linfocitos B (Nardelli B, *et al.* (2000) *Blood* 97: 198-204; Scapini P., *et al.* (2003) *J Exp Med* 197:297-302). La sobreexpresión de BAFF en ratones transgénicos conduce a hiperplasia de linfocitos B y al desarrollo de enfermedad autoinmune grave (Mackay, *et al.* (1999) *J. Exp. Med.* 190:1697-1710; Gross, *et al.* (2000) *Nature* 404:995-999; Khare, *et al.* (2000) *Proc. Natl. Acad. Sci.* EE.UU. 97:3370-33752-4).

Se ha descrito una correlación directa entre los niveles de BAFF y los niveles de células en el linfoma no Hodgkin (Novak *et al.*, (2004) *Blood* 104: 2247-2253).

Además, los niveles de BAFF se correlacionan con la gravedad de la enfermedad, lo que sugiere que BAFF puede desempeñar un papel directo en la patogénesis de estas enfermedades. BAFF se une a tres miembros de la superfamilia de receptores de TNF, TACI, BCMA y BR3 (también conocidos como BAFF-R) (Gross, *et al.*, *supra*; Thompson, J. S., *et al.*, (2001) *Science* 293, 2108-2111; Yan, M., *et al.* (2001) *Curr. Biol.* 11:1547-1552; Yan, M., *et al.*, (2000) *Nat. Immunol.* 1:37-41; Schiemann, B., *et al.*, (2001) *Science* 293:2111-2114). De los tres, solo BR3 es específico de BAFF; los otros dos receptores también se unen al miembro de la familia de TNF relacionado, ABRIL. La comparación de los fenotipos de ratones mutantes o con desactivación de BAFF y receptor indica que la señalización a través de BR3 media las funciones de supervivencia de los linfocitos B de BAFF (Thompson, *et al.*, *supra*; Yan, (2002), *supra*; Schiemann, *supra*). Por el contrario, TACI parece actuar como un receptor inhibidor (Yan, M., (2001) *Nat. Immunol.* 2, 638-643), mientras que el papel de BCMA está menos claro (Schiemann, *supra*).

En la actualidad, un anticuerpo monoclonal de bloqueo dirigido a BAFF (Lymphostat-B™, Human Genome Sciences, Rockville, MD) se encuentra en ensayos clínicos en pacientes con AR y LES, TACI- Fc (ZymoGenetics, Seattle, WA y Serono, Ginebra, CH) se encuentra en ensayos clínicos en pacientes con LES, y BAFF-R:Fc (también denominado BR3-Fc) (Biogen Idec, Cambridge, MA y Genentech, South San Francisco, CA) está en desarrollo clínico. Los informes de los datos del ensayo de fase II con Lymphostat-B™ en la artritis reumatoide indicaron que los pacientes experimentaron una reducción en poblaciones de linfocitos B seleccionadas (McKay, J., *et al.*, 69ª Reunión científica

anual del colegio estadounidense de reumatología/asociación de profesionales de la reumatología. Presentación oral n.º 1.920 (16 de noviembre de 2005)).

La justificación del uso de inhibidores de BAFF para el tratamiento de enfermedades mediadas por los linfocitos B es evidente. Sin embargo, el conocimiento del alcance del uso de BAFF como un marcador, no como una diana para un agente terapéutico, y el conocimiento de cuándo y cómo usarlo como marcador en las pautas de tratamiento está menos claro. A continuación, se describe la respuesta a estas y a otras preguntas.

Sumario de la invención

La presente invención se refiere al descubrimiento de que los niveles de BAFF en suero son un indicador de los niveles de linfocitos B en sujetos, incluyendo un indicador temprano de los niveles de los linfocitos B en tejido de sujetos tratados con agentes terapéuticos de agotamiento o proliferación de los linfocitos B, y al uso, por tanto, en kits o en cualquier método de tratamiento o evaluación de los sujetos que se beneficiaría de conocer los niveles de linfocitos B del sujeto. Además, la presente invención se refiere al descubrimiento de que los niveles de BAFF en suero están inversamente relacionados con los niveles de linfocitos B en el tejido de un paciente tras el tratamiento con un agente terapéutico de linfocitos B y el uso de ese conocimiento en el tratamiento de pacientes.

La presente invención proporciona métodos de control de los niveles de linfocitos B en un sujeto durante el tratamiento con un agente de agotamiento de los linfocitos B que comprende las etapas de determinar los niveles de BAFF en suero de una muestra de ensayo del sujeto, determinar los niveles de BAFF en suero en una muestra de control y calcular los niveles de linfocitos B en el sujeto con respecto al control, cálculo que comprende la etapa de comparar el nivel de BAFF en suero de la muestra de ensayo con el nivel de BAFF en suero de la muestra de control (por ejemplo, dividiendo el nivel de BAFF en suero de la muestra de ensayo con el nivel de BAFF en suero de la muestra de control) según lo definido en las reivindicaciones. De acuerdo con una realización, los linfocitos B son linfocitos B positivos en CD19 y/o en CD20. Este método es útil para determinar los niveles de linfocitos B en cualquier sujeto para quien el conocimiento de los niveles de linfocitos B en el sujeto sería útil para tratar una enfermedad. Por lo tanto, este método puede ser útil para controlar o tratar sujetos de cualquier enfermedad en la que se vean afectados o se deban controlar los linfocitos B, o en el que la enfermedad se trata con un agente promotor de los linfocitos B o un agente de agotamiento de los linfocitos B. Por lo tanto, este método es útil para controlar los linfocitos B en varios sujetos, incluyendo aquellos sujetos que no padecen una inmunodeficiencia por enfermedad autoinmune, un linfoma o una leucemia.

La presente invención proporciona un agente de agotamiento de los linfocitos B para su uso en un método de tratamiento de un sujeto que padece una enfermedad que comprende las etapas de (1) administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un agente terapéutico al sujeto; (2) determinar los niveles de BAFF en suero en una muestra de ensayo del sujeto; (3) calcular el nivel de linfocitos B en la muestra de ensayo en relación con una muestra de control; y (3) administrar una cantidad terapéuticamente eficaz del mismo agente en un punto temporal dependiente del nivel de BAFF en suero en el sujeto según lo definido en las reivindicaciones. El punto temporal puede ser antes o durante la recuperación de los linfocitos B del tejido, es decir, antes de la recuperación de los linfocitos B en sangre periférica. La fase de recuperación de los linfocitos B se puede caracterizar por la reducción de los niveles de BAFF en suero. La fase de agotamiento máximo de los linfocitos B se puede caracterizar por niveles máximos de BAFF en el suero de un sujeto.

La presente invención proporciona un agente de agotamiento de los linfocitos B para su uso en un método de terapia de mantenimiento para un sujeto tratado previamente con un agente de agotamiento de los linfocitos B que comprende la etapa de determinar los niveles de BAFF en suero en el sujeto y tratar al sujeto con un agente de agotamiento de linfocitos B (el mismo o diferente agente) en un punto temporal dependiente del nivel de BAFF en suero de la muestra de ensayo según lo definido en las reivindicaciones. El punto temporal es antes o durante la recuperación de los linfocitos B del tejido, es decir, antes de la recuperación de los linfocitos B en sangre periférica, según lo definido en las reivindicaciones, el agotamiento máximo de los linfocitos B y mientras los niveles de BAFF en suero están disminuyendo.

De acuerdo con la presente invención, el agente terapéutico es un agente de agotamiento de los linfocitos B. De acuerdo con realizaciones preferidas, el agente terapéutico no es un antagonista de BAFF que se une a BAFF. El agente terapéutico puede no evitar que BAFF se una a BCM, TACI o BR3 mediante la unión a BAFF para bloquear la interacción. De acuerdo con una realización, el agente terapéutico es un agente de agotamiento de los linfocitos B que se dirige a un antígeno de superficie de linfocitos B seleccionado del grupo que consiste en CD10, CD19, CD20, CD21, CD22, CD23, CD24, CD37, CD40, CD52, D53, CD72, CD73, CD74, CDw75, CDw76, CD77, CDw78, CD79a, CD79b, CD80, CD81, CD82, CD83, CDw84, CD85, CD86, CD180 (RP105), FcRH2 (IRTA4), CD79A, C79B, 40 CR2, CCR6, CD72, P2X5, HLA-DOB, CXCR5 (BLR1), FCER2, BR3 (también conocido como BAFF-R), TACI, BTLA, NAG14 (también conocido como LRRC4), SLGC16270 (ala LOC283663), FcRH1 (IRTA5), FcR5 (IRTA2), ATWD578 (también conocido como MGC15619), FcRH3 (IRTA3), FcRH4 (IRTA1), FcRH6 (también conocido como LOC343413) y BCMA (también conocido como TNFRSF17), HLA-DO, HLA-Dr10 y MHC de Clase II. De acuerdo con una realización, el agente de agotamiento de los linfocitos B que se dirige a un antígeno de superficie de linfocitos B es un anticuerpo monoclonal. De acuerdo con una realización específica, el anticuerpo monoclonal es un anticuerpo

humano, humanizado, quimérico o manipulado genéticamente de otro modo.

De acuerdo con la presente invención, la enfermedad es un trastorno inmunológico que puede ser un cáncer según lo definido en las reivindicaciones. El trastorno inmunológico puede ser un linfoma, leucemia o mieloma múltiple. En otra realización, la enfermedad es un linfoma de linfocitos B o leucemia. La enfermedad se selecciona del grupo que consiste en una enfermedad autoinmune, una neoplasia de linfocitos B, un trastorno linfoproliferativo de linfocitos B o una enfermedad de inmunodeficiencia. La enfermedad autoinmune se puede seleccionar del grupo que consiste en artritis reumatoide incluyendo artritis reumatoide juvenil, lupus, incluyendo lupus eritematoso sistémico (LES), enfermedad de Wegener, enfermedad inflamatoria del intestino, incluyendo la enfermedad de Crohn y la colitis ulcerosa, púrpura trombocitopénica idiopática (ITP), púrpura trombocitopénica trombótica (TTP), trombocitopenia autoinmune, esclerosis múltiple, psoriasis, nefropatía de IgA, polineuropatías de IgM, miastenia grave, vasculitis, diabetes mellitus, síndrome de Reynaud, síndrome de Sjorgen, glomerulonefritis, dermatomiositis/polimiositis, vasculitis asociada a ANCA (AAV), anemia aplásica, anemia hemolítica autoinmune (AIHA), deficiencia de factor VIII, hemofilia A, neutropenia autoinmune, síndrome de Castleman, síndrome de Goodpasture, rechazo de trasplantes de órganos sólidos, enfermedad del injerto contra el hospedador (EICH), púrpura trombocitopénica trombótica (TTP), mediada por IgM, tiroiditis de Hashimoto, hepatitis autoinmune, neumonitis intersticial linfocítica (LIP), bronquiolitis obliterante (no trasplante) frente a NSIP, síndrome de Guillain-Barre, vasculitis de vasos grandes, arteritis de células gigantes (de Takayasu), vasculitis de vasos medios, enfermedad de Kawasaki, poliarteritis nodosa, neuromielitis óptica (NMO), neuropatía de IgG y miastenia grave y pénfigo vulgar. El linfoma o la leucemia es un linfoma o una leucemia de linfocitos B. La enfermedad se puede seleccionar del grupo que consiste en linfoma no Hodgkin (NHL) o enfermedad de Hodgkin predominante en linfocitos (LPHD), leucemia linfocítica crónica (CLL), leucemia linfocítica aguda (ALL), linfoma linfocítico pequeño (SLL) y mieloma múltiple.

De acuerdo con algunas realizaciones, el agente de agotamiento de los linfocitos B se selecciona del grupo que consiste en un anticuerpo anti-CD20, un anticuerpo anti-BR3, un anticuerpo anti-CD22 y un anticuerpo anti-CD52. En cualquiera de las realizaciones de los métodos, composiciones y artículos de fabricación de la divulgación, el anticuerpo anti-CD20 puede ser un anticuerpo quimérico, humano, humanizado o manipulado genéticamente de otro modo. De acuerdo con una realización, el anticuerpo anti-BR3 comprende un dominio de VH y VL descrito en el presente documento.

Las realizaciones específicas del anticuerpo anti-CD20 incluyen rituximab (RITUXAN®), m2H7 (2H7 murino), hu2H7 (2H7 humanizado) y todas sus variantes funcionales, hu2H7.v16 (v significa versión), v31, v96, v114 y v115, (por ejemplo, véase el documento WO 2004/056312).

También se describen en el presente documento kits y artículos de fabricación que comprenden instrucciones para ensayar los niveles de BAFF en suero en un sujeto tras la administración de un agente terapéutico y los usos de los resultados del ensayo para el establecimiento de pautas de repetición del tratamiento. La presente divulgación también proporciona kits que comprenden instrucciones para ensayar los niveles de BAFF en suero en un sujeto y los usos de los resultados del ensayo para controlar la eficacia del agotamiento de los linfocitos B y/o la cinética de la repleción de los linfocitos B en el sujeto tras la administración de un agente terapéutico. Un kit que comprende un reactivo de unión a BAFF y un prospecto que comprende instrucciones para determinar los niveles de BAFF en suero usando el reactivo de unión a BAFF y para relacionar los niveles de BAFF en suero con los niveles de linfocitos B en el paciente tras el tratamiento con un agente de agotamiento o de potenciación de los linfocitos B.

Breve descripción de las figuras

Figura 1. El BAFF en suero se regula positivamente tras el agotamiento de los linfocitos B en ratones.

Figura 2. La regulación positiva de BAFF se correlaciona con el grado de agotamiento de los linfocitos B tisulares anti-CD20 en ratones.

Figura 3. El BAFF en suero es un indicador de la repleción de los linfocitos B tisulares anti-BR3 en ratones normales.

Figura 4. Agotamiento de linfocitos B periféricos anti-BR3 y nivel de BAFF soluble en sangre de Cyno.

Figura 5. Agotamiento de linfocitos B CD20 periféricos anti-BR3 y nivel de BAFF soluble en sangre de Cyno - cinéticas individuales en dos monos Cyno representativos.

Figura 6. Diagrama esquemático que ilustra el retraso en la recuperación de los linfocitos B periféricos en comparación con la recuperación de los linfocitos B tisulares.

Descripción detallada de la invención

La respuesta clínica de un sujeto a agentes terapéuticos que afectan a los linfocitos B se suele medir mediante la evaluación del agotamiento de los linfocitos B en la sangre del sujeto. Sin embargo, los resultados no se

correlacionan completamente con los niveles de agotamiento de los linfocitos B observados en el tejido (bazo, ganglios linfáticos, sitios autoinmunes como articulaciones, líquido espinal, etc.). En realidad, la respuesta clínica para los tratamientos de agotamiento de los linfocitos B se correlaciona más con el agotamiento de los linfocitos B en órganos diana que con el agotamiento de los linfocitos B en la sangre, especialmente en oncología. Por lo tanto, la búsqueda de un mejor marcador para indicar el agotamiento de los linfocitos B tisulares, así como la recuperación de los linfocitos B (repleción) es importante para la optimización de los tratamientos de agotamiento de los linfocitos B.

La presente solicitud desvela que los niveles de BAFF en suero son marcadores más adecuados para reflejar la carga total de linfocitos B en un sujeto. Como tal, la evaluación de los niveles de BAFF en suero se puede usar para determinar los niveles de linfocitos B en los sujetos, independientemente de si el agente terapéutico se dirige a los linfocitos B para la inhibición o para la estimulación del crecimiento o la supervivencia celular. La evaluación de los niveles de BAFF en suero en pacientes puede ser particularmente útil en el control de la eficacia de los tratamientos con linfocitos B, tales como agentes de agotamiento de linfocitos B o agentes promotores de los linfocitos B. Además, la revaloración de los niveles de BAFF en suero durante la recuperación de los linfocitos B tras el agotamiento de los linfocitos B puede ser útil para determinar las pautas de repetición del tratamiento para el agente de agotamiento de los linfocitos B o para reanudar el tratamiento con cualquier otro agente terapéutico que module el sistema inmune (por ejemplo, DMARDS, agentes de agotamiento de los linfocitos T, agentes inmunosupresores, vacunas, etc.). Los niveles de BAFF en suero también pueden ser un marcador precoz para determinar los pacientes que responden bien al tratamiento con linfocitos B frente a los que no y necesitan tratamiento alternativo inmediato. La evaluación de los niveles de BAFF en suero puede ser útil en las terapias de mantenimiento, terapias que se llevan a cabo para mantener el estado de una enfermedad después del tratamiento con un agente terapéutico. Por ejemplo, se puede desear terapia de mantenimiento para mantener la fase de remisión de una enfermedad autoinmune o un cáncer.

El término "BAFF" se refiere a un polipéptido, también conocido como BLyS, TALL-1, THANK, TNFSF13B o zTNF4 (por ejemplo, SEC ID NO: 102), que es un miembro de la superfamilia de ligandos de TNF que tienen un papel en la supervivencia de los linfocitos B, y homólogos, isoformas, fragmentos y variantes de los mismos, que tienen actividad de BAFF. El término BAFF incluye aquellos polipéptidos descritos en Shu *et al.*, *J. Leukocyte Biol.*, 65:680 (1999); n.º de acceso del GenBank AF136293; documento WO98/18921, publicado el 7 de mayo de 1998; documento EP 869.180, publicado el 7 de octubre de 1998; documento WO98/27114, publicado el 25 de junio de 1998; el documento WO99/12964, publicado el 18 de marzo de 1999; el documento WO99/33980, publicado el 8 de julio de 1999; Moore *et al.*, *Science*, 285:260-263 (1999); Schneider *et al.*, *J. Exp. Med.*, 189:1747-1756 (1999); Mukhopadhyay *et al.*, *J. Biol. Chem.*, 274:15978-15981 (1999).

Un receptor para BAFF de acuerdo con la presente invención incluye TACI, BR43x2, hTACI(265), BCMA y BR3, y cualquier homólogo, isoforma, fragmento y variante de los mismos que tenga actividad de unión a BAFF y a través del cual BAFF pueda señalizar células. "BR3" también se denomina, a veces, BAFF-R en la técnica. Los ejemplos de BR3 incluyen los descritos en las publicaciones PCT WO 02/24909 y WO 03/014294, por ejemplo, BR3 humano (SEQ ID NO: 103), dominio extracelular de BR3 humano (SEQ ID NO: 104) y dominio extracelular de BR3 de ratón (SEQ ID NO: 105). Los ejemplos de TACI, BR43X2, hTACI(265) incluyen los que se describen en Gross *et al.*, (200) *Nature* 404:995-999, documento WO 98/39361, documento WO 00/40716 y documento WO 01/60397. Los ejemplos de BCMA incluyen los descritos en Laabi *et al.*, (1992) *EMBO J.* 11(11): 3897-3904.

La expresión "anticuerpo anti-receptor de BAFF" o "anticuerpo de unión al receptor de BAFF" se refiere a cualquier anticuerpo que se une específicamente a al menos un epítipo de un receptor de BAFF. Los ejemplos de anticuerpos anti-BR3 incluyen, pero sin limitación, los descritos en el documento WO 02/24909 (por ejemplo, 9.1 y 2.1) y en el documento WO 2006/073941 (por ejemplo, los ejemplos de anticuerpos anti-TACI incluyen, pero sin limitación, los descritos en el documento WO 2004/011611). Los ejemplos de anticuerpos anti-BCMA incluyen, pero sin limitación, los descritos en Thompson *et al.*, (2001) 293(5537):2108-2111 (por ejemplo, C4.E2.1) y el anticuerpo Vicky-1 (Abcam, Inc., Cambridge, Ma). Los anticuerpos anti-receptor de BAFF son preferentemente anticuerpos monoclonales. El uso de cualquiera de los anticuerpos anti-receptor de BAFF que inhiben la unión de BAFF a un receptor o los anticuerpos anti-receptor de BAFF que no inhiben la unión de BAFF a un receptor como agentes terapéuticos se contemplan en los métodos de la presente invención. Las formas humanas, humanizadas, quiméricas o mejoradas de otra forma de los anticuerpos anti-receptor de BAFF útiles para el tratamiento de seres humanos, incluyendo las formas mejoradas de los mencionados anteriormente, se contemplan como agentes terapéuticos en los métodos de la presente invención. En una realización preferida, el anticuerpo anti-receptor de BAFF se unirá un receptor de BAFF con una Kd de <10 nM. En otras realizaciones preferidas, la unión es a una Kd < 7,5 nM, más preferentemente < 5 nM, incluso más preferentemente de entre 1-5 nM, lo más preferentemente, < 1 nM.

La expresión "antagonista de BAFF", como se usa en el presente documento, se usa en el sentido más amplio, e incluye cualquier molécula que (1) se une a un polipéptido BAFF o se une a un receptor de BAFF para bloquear parcial o totalmente la interacción de BAFF con un receptor BAFF y (2) bloquea o inhibe parcial o totalmente la señalización de BAFF a través del receptor de BAFF. Los antagonistas de BAFF pueden ser proteicos (por ejemplo, anticuerpos, proteínas de fusión del receptor, péptidos, peptidocuerpos, mutantes de BAFF negativos dominantes) o

moléculas no proteicas (por ejemplo, pequeñas moléculas orgánicas (≤ 500 Da)), incluyendo ARNip y aptámeros, etc. Los métodos de evaluación de la neutralización de la actividad biológica de los antagonistas de BAFF incluyen los que son conocidos y se describen en la técnica. Los ejemplos de antagonistas de BAFF incluyen polipéptidos que comprenden una parte de unión a BAFF de un receptor de BAFF o una de sus variantes de unión a BAFF (por ejemplo, los documentos WO 01/12812, WO 02/24909, WO 00/40716, WO 03/024991), anticuerpos anti-BAFF (por ejemplo, el documento WO 03/33658), peptidocuerpos de unión a BAFF (por ejemplo, el documento WO 02/092620), anticuerpos anti-BAFF-R (por ejemplo, el documento WO 02/24909) y péptidos de unión a BAFF (por ejemplo, el documento WO 02/16412). De acuerdo con una realización, el antagonista del BAFF se selecciona del grupo que consiste en BCMA-Fc (por ejemplo, el documento WO 01/12812), BAFF-R-Fc (por ejemplo, el documento WO 02/24909), TACI-Ig (por ejemplo, el documento WO 00/40716), un anticuerpo anti-BAFF (por ejemplo, el documento WO 03/33658), un anticuerpo anti-BAFF-R (por ejemplo, el documento WO 02/24909), un peptidocuerpo de unión a BAFF (por ejemplo, el documento WO 02/092620), un BAFF dominante negativo (por ejemplo, el documento WO 04/081043). De acuerdo con una realización adicional, los anticuerpos anti-BAFF y los anticuerpos anti-receptor de BAFF son humanos, humanizados, quimerizados o mejorados de otra forma para el tratamiento en seres humanos. Los ejemplos de un anticuerpo anti-BAFF incluyen belimumab y los anticuerpos de unión a BAFF descritos en los documentos WO02/02641 y WO 03/55979. Los ejemplos de la proteína de fusión de BAFF-péptido de unión-Fc incluyen proteínas de fusión de unión a BAFF descritas en el documento WO 02/24909.

Un "marcador de superficie de linfocito B" o "antígeno de superficie de linfocito B", en el presente documento, es un antígeno expresado en la superficie de un linfocito B que puede servir como diana con un antagonista que se une al mismo. Los marcadores de superficie de linfocitos B ilustrativos incluyen, pero sin limitación, CD10, CD19, CD20, CD21, CD22, CD23, CD24, CD37, CD40, CD52, D53, CD72, CD73, CD74, CDw75, CDw76, CD77, CDw78, CD79a, CD79b, CD80, CD81, CD82, CD83, CDw84, CD85, CD86, CD180 (RP105), FcRH2 (IRTA4), CD79A, C79B, CR2, CCR6, CD72, P2X5, HLA-DOB, CXCR5 (BLR1), FCER2, BR3 (también conocido como BAFF-R), TACI, 50 BTLA, NAG 14 (también conocido como LRRC4), SLGC16270 (ala LOC283663), FcRH1 (IRTA5), FcRH5 (IRTA2), ATWD578 (también conocido como MGC15619), FcRH3 (IRTA3), FcRH4 (IRTA1), FcRH6 (también conocido como LOC343413) y BCMA (también conocido como TNFRSF17), HLA-DO, HLA-Dr10 y MHC de clase II.

En una realización preferida, el marcador de superficie de linfocitos B de especial interés se expresa en los linfocitos B en comparación con otros tejidos no de linfocitos B de un mamífero, y se puede expresar tanto en linfocitos B precursores como en linfocitos B maduros. Los ejemplos de marcadores de superficie de linfocitos B preferidos incluyen, pero sin limitación, CD19, CD20 y CD22.

El antígeno "CD19" se refiere a un antígeno identificado, por ejemplo, por el HD237-CD19 o anticuerpo B4 (Kiesel *et al.*, "Leukemia Research II", 12: 1119 (1987)). CD19 se encuentra en linfocitos B Pro-B, pre-B, inmaduros y maduros, activados y de memoria, hasta un punto justo antes de la diferenciación terminal en células plasmáticas. CD19 ni CD20 se expresan en células madre hematopoyéticas ni en células plasmáticas. La unión de un antagonista a CD19 puede provocar la internalización del antígeno CD19. La secuencia de aminoácidos de CD19 humano se muestra en "The Leukocyte Antigen Facts Book, Barclay" *et al. supra*, página 180, y también n.º de acceso del EMBL Genbank M28170 y Swissprot P11836.

El antígeno "CD22", también conocido como BL-CAM o Lyb8, es una glicoproteína de membrana integral de tipo 1 con peso molecular de aproximadamente 130 (reducida) a 140 kD (sin reducir). Se expresa tanto en el citoplasma como en la membrana celular de los linfocitos B. El antígeno CD22 aparece pronto en la diferenciación de los linfocitos B, en aproximadamente la misma etapa que el antígeno CD19. A diferencia de otros marcadores de linfocitos B, la expresión en la membrana de CD22 se limita a las etapas de diferenciación tardía comprendidas entre los linfocitos B maduros (CD22+) y las células plasmáticas (CD22-). El antígeno CD22 se describe, por ejemplo, en Wilson *et al. J. Exp. Med.* 173:137 (1991) y Wilson *et al. J. Immunol.* 150:5013 (1993).

El antígeno "CD20" es una fosfoproteína transmembrana no glicosilada con un peso molecular de aproximadamente 35 kD que se encuentra en la superficie de más del 90 % de los linfocitos B de sangre periférica u órganos linfoides. CD20 se expresa durante el desarrollo de linfocitos pre-B y permanece hasta la diferenciación de las células plasmáticas; no se encuentra en células madre humanas, células progenitoras linfoides ni células plasmáticas normales. CD20 está presente tanto en linfocitos B normales como en linfocitos B malignos. Otros nombres para CD20 en la bibliografía incluyen "antígeno de diferenciación restringido a los linfocitos B" y "Bp35". El antígeno CD20 que se describe, por ejemplo, en Clark y Ledbetter, *Adv. Can. Res.* 52: 81-149 (1989) y Valentine *et al. J. Biol. Chem.* 264(19): 11282-11287 (1989).

El anticuerpo de unión a CD20 y el anticuerpo anti-CD20 se usan indistintamente en el presente documento y engloban todos los anticuerpos que se unen con CD20 con suficiente afinidad de modo que el anticuerpo sea útil como un agente terapéutico en la dirección a una célula que expresa el antígeno, y no reaccionan de forma cruzada significativamente con otras proteínas tales como una proteína de control negativo en los ensayos descritos más adelante. También se contemplan anticuerpos biespecíficos en los que un brazo del anticuerpo se une con CD20. También están englobados por la presente definición de anticuerpo de unión a CD20 los fragmentos funcionales de los anticuerpos anteriores. El anticuerpo de unión a CD20 se unirá con CD20 con una Kd de < 10 nM. En realizaciones preferidas, la unión es a una Kd de $< 7,5$ nM, más preferentemente < 5 nM, aún más preferentemente

entre 1-5 nM, lo más preferentemente < 1 nM.

Los ejemplos de anticuerpos que se unen con el antígeno CD20 incluyen: "C2B8" que se denomina ahora "Rituximab" ("RITUXAN®") (patente de EE.UU. n.º 5.736.137, incorporada en el presente documento por referencia);
 5 el anticuerpo murino 2B8 marcado con itrio-[90] designado "Y2B8" o "Ibritumomab Tiuxetan" ZEVALIN® (patente de EE.UU. n.º 5.736.137); IgG2a murina "B1", también denominado "Tositumomab" (Beckman Coulter) opcionalmente marcado con ¹³¹I para generar el anticuerpo "131I-B1" (yodo I131 tositumomab, BEXXAR™) patente de EE.UU. n.º 5.595.721); anticuerpo monoclonal murino "1F5" (Press *et al.* *Blood* 69(2): 584-591 (1987) y variantes del mismo incluyendo anticuerpo "con parches marco conservado" o 1F5 humanizado (documento WO03/002607, Leung, S.);
 10 depósito de ATCC HB-96450); anticuerpo 2H7 murino y 2H7 quimérico (patente de EE.UU. n.º 5.677.180); 2H7 humanizado; huMax-CD20 (Genmab, Dinamarca); AME-133 (Applied Molecular Evolution); anticuerpo A20 o variantes del mismo tales como el anticuerpo A20 quimérico o humanizado (cA20, hA20, respectivamente) (documento US 2003/0219433, Immunomedics); y anticuerpos monoclonales L27, G28-2, 93-1B3, B-C1 o NU-B2 disponibles del International Leukocyte Typing Workshop (Valentine *et al.*, en: "Leukocyte Typing III" (McMichael, Ed., pág. 440, Oxford University Press (1987)).
 15

Los términos "rituximab" o "RITUXAN®", en el presente documento, se refieren al anticuerpo monoclonal humano/murino quimérico obtenido por ingeniería genética dirigido contra el antígeno CD20 y designado "C2B8" en la patente de EE.UU. n.º 5.736.137, incluyendo fragmentos del mismo que conservan la capacidad para unirse con CD20.
 20

En una realización específica, los anticuerpos anti-CD20 se unen a CD20 humana y de primates. En realizaciones específicas, los anticuerpos que se unen a CD20 son humanizados o quiméricos. Los anticuerpos que se unen a CD20 incluyen rituximab (Rituxan®), m2H7 (2H7 murino), hu2H7 (2H7 humanizado) y todas sus variantes funcionales, incluyendo, sin limitación, hu2H7.v16 (v representa la versión), v31, v73, v75, así como variantes deficientes en fucosa, y otras variantes de 2H7 descritas en el documento WO2004/056312. A menos que se indique, las secuencias desveladas en el presente documento de 2H7v.16 humanizado y sus variantes son del polipéptido maduro, es decir, sin la secuencia líder.

Las patentes y publicaciones de patentes relativas a los anticuerpos CD20 incluyen las patentes de EE.UU. n.º 5.776.456, 5.736.137, 5.843.439, 6.399.061 y 6.682.734, así como las solicitudes de patente de EE.UU. n.º US 2002/0197255A1, US 2003/0021781A1, US 2003/0082172 A1, US 2003/0095963 A1, US 2003/0147885 A1 (Anderson *et al.*); la patente de EE.UU. n.º 6.455.043B1 y WO00/09160 (Grillo-Lopez, A.); WO00/27428 (Grillo-Lopez y White); WO00/27433 (Grillo-Lopez y Leonard); WO00/44788 (Braslawsky *et al.*); WO01/10462 (Rastetter, W.); WO01/10461 (Rastetter y White); WO01/10460 (White y Grillo-Lopez); US2001/0018041A1, US2003/0180292A1, WO01/34194 (Hanna y Hariharan); las solicitudes de patente de EE.UU. n.º US2002/0006404 y WO02/04021 (Hanna y Hariharan); las solicitudes de patente de EE.UU. n.º US2002/0012665 A1 y WO01/74388 (Hanna, N.); la solicitud de patente de EE.UU. n.º US 2002/0058029 A1 (Hanna, N.); la solicitud de patente de EE.UU. n.º US 2003/0103971 A1 (Hariharan y Hanna); la solicitud de patente de EE.UU. n.º US2002/0009444A1, y
 35 WO01/80884 (Grillo-Lopez, A.); WO01/97858 (White, C.); las solicitudes de patente de EE.UU. n.º US2002/0128488A1 y WO02/34790 (Reff, M.); WO02/060955 (Braslawsky *et al.*); WO2/096948 (Braslawsky *et al.*); WO02/079255 (Reff y Davies); la patente de EE.UU. n.º 6.171.586B1 y el documento WO98/56418 (Lam *et al.*); WO98/58964 (Raju, 55 S.); WO99/22764 (Raju, S.); WO99/51642, US la patente de EE.UU. n.º 6.194.551B1, la patente de EE.UU. n.º 6.242.195B1, la patente de EE.UU. n.º 6.528.624B1 y la patente de EE.UU. n.º 6.538.124 (Idusogie *et al.*); el documento WO00/42072 (Presta, L.); el documento WO00/67796 (Curd *et al.*); el documento WO01/03734 (Grillo-Lopez *et al.*); la solicitud de EE.UU. n.º US 2002/0004587A1 y el documento WO01/77342 (Miller y Presta); la solicitud de EE.UU. n.º US2002/0197256 (Grewal, I.); la solicitud de EE.UU. n.º US 2003/0157108 A1 (Presta, L.); las patentes de EE.UU. n.º 6.565.827B1, 6.090.365B1, 6.287.537B1, 6.015.542, 5.843.398 y 5.595.721, (Kaminski *et al.*); las patentes de EE.UU. n.º 5.500.362, 5.677.180, 5.721.108, 6.120.767, 6.652.852B1 (Robinson *et al.*); la patente de EE.UU. n.º 6.410.391B1 (Raubitschek *et al.*); la patente de EE.UU. n.º 6.224.866B1 y el documento WO00/20864 (Barbera-Guillem, E.); el documento WO01/13945 (Barbera-Guillem, E.); el documento WO00/67795 (Goldenberg); la solicitud de EE.UU. n.º US 2003/0133930 A1 y el documento WO00/74718 (Goldenberg y Hansen); el documento WO00/76542 (Golay *et al.*); el documento WO01/72333 (Wolin y Rosenblatt); patente de EE.UU. n.º 6.368.596B1 (Ghetie *et al.*); patente de EE.UU. n.º 6.306.393 y solicitud de
 45 EE.UU. n.º US2002/0041847 A1, (Goldenberg, D.); solicitud de EE.UU. n.º US2003/0026801A1 (Weiner y Hartmann); documento WO02/102312 (Engleman, E.); solicitud de patente de EE.UU. n.º 2003/0068664 (Albitar *et al.*); documento WO03/002607 (Leung, S.); documento WO03/049694, documento US2002/0009427A1 y documento US 2003/0185796 A1 (Wolin *et al.*); documento WO03/061694 (Sing y Siegal); documento US 2003/0219818 A1 (Bohen *et al.*); documento US 2003/0219433 A1 y documento WO 03/068821 (Hansen *et al.*); documento US2003/0219818A1 (Bohen *et al.*); documento US2002/0136719A1 (Shenoy *et al.*); documento WO2004/032828 (Wahl *et al.*). Véase también la patente de EE.UU. n.º 5.849.898 y solicitud EP n.º 330,191 (Seed *et al.*); patente de EE.UU. n.º 4.861.579 y documento EP332,865A2 (Meyer y Weiss); documento USP 4.861.579 (Meyer *et al.*); documento WO95/03770 (Bhat *et al.*); documento US 2003/0219433 A1 (Hansen *et al.*).
 60

Los anticuerpos CD20 pueden ser anticuerpos desnudos o conjugados con un compuesto citotóxico, tal como un radioisótopo o una toxina. Dichos anticuerpos incluyen el anticuerpo Zevalin™ que está enlazado al radioisótopo,
 65

itrio-90 (IDEC Pharmaceuticals, San Diego, CA) y Bexxar™ que está conjugado a I-131 (Corixa, WA). Las variantes de 2H7 humanizadas incluyen las que tienen sustituciones de aminoácidos en la FR y variantes de maduración de afinidad con los cambios en las CDR injertadas. Los aminoácidos sustituidos en la CDR o FR no se limitan a los presentes en el anticuerpo donante o aceptor. En otras realizaciones, los anticuerpos anti-CD20 usados en la invención comprenden, además, cambios en los restos de aminoácidos de la región Fc que conducen a la mejora de la función efectora incluyendo una mayor función CDC y/o ADCC, y la muerte de los linfocitos B (también denominado en el presente documento agotamiento de los linfocitos B). En particular, se han identificado tres mutaciones para la mejora de la actividad CDC y ADCC: S298A/E333A/K334A (también denominadas en el presente documento un mutante Ala triple o variante, estando la numeración en la región Fc de acuerdo con el sistema de numeración de la UE; Kabat *et al.*, *supra*) como se describe (Idusogie *et al.*, *supra* (2001.); Shields *et al.*, *supra*).

Otros anticuerpos anti-CD20 de la invención incluyen los que tienen cambios específicos que mejoran la estabilidad. En una realización, el anticuerpo anti-CD20 quimérico tiene regiones V murinas y la región C humana. Uno de dicho anticuerpo anti-CD20 quimérico específico es Rituxan® (Rituximab®; Genentech, Inc.). Rituximab y hu2H7 pueden mediar la lisis de los linfocitos B a través tanto de la citotoxicidad dependiente del complemento (CDC) como de la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC). Las variantes de anticuerpos con secuencias de aminoácidos de la región Fc alteradas y la capacidad de unión C1q aumentada o reducida se describen en la patente de EE.UU. n.º 6.194.551B1 y el documento WO99/51642. Véase, también, Idusogie *et al.* *J. Immunol.* 164:4178-4184 (2000).

La expresión "agentes terapéuticos" se refiere a agentes que son útiles en el alivio de una enfermedad o los síntomas de una enfermedad. Los agentes terapéuticos pueden ser moléculas proteicas (por ejemplo, anticuerpos, proteínas de fusión del receptor, péptidos, peptidocitos, inmunoadhesinas) o moléculas no proteicas (por ejemplo, moléculas orgánicas pequeñas (≤ 500 Da)), incluyendo el ARNip y los aptámeros, etc.

La expresión "agentes potenciadores de linfocitos B" se refiere a agentes que estimulan la proliferación o la supervivencia de los linfocitos B. Los ejemplos de agentes potenciadores de linfocitos B incluyen citocinas y anticuerpos que estimulan la proliferación o la supervivencia de linfocitos B. Los ejemplos de citocinas que son agentes potenciadores de linfocitos B incluyen, pero sin limitación, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-14, IL-15 e IL-21.

Como se usa en el presente documento, "el agotamiento de los linfocitos B" se refiere a una reducción en los niveles de linfocitos B de la sangre periférica en un animal o ser humano después del tratamiento con fármaco o anticuerpo, en comparación con el nivel previo al tratamiento. Los niveles de linfocitos B se pueden medir usando ensayos bien conocidos, tales como mediante la obtención de un recuento sanguíneo completo o mediante análisis FACS para los marcadores de linfocitos B conocidos (por ejemplo, B220 o CD19 en ratones, o CD19 y CD20 en seres humanos). El agotamiento de los linfocitos B puede ser parcial o completo. En una realización, el agotamiento de los linfocitos B periféricos que expresan CD20 es de al menos el 25 %. En otra realización, el agotamiento de los linfocitos B periféricos que expresan CD20 es de al menos el 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 % o 90 %. Sin quedar limitados por ningún mecanismo, los posibles mecanismos de agotamiento de linfocitos B incluyen ADCC, CDC, apoptosis, modulación del flujo de calcio, o una combinación de dos o más de los anteriores.

La expresión "agentes de agotamiento de los linfocitos B" se refiere a agentes que reducen los linfocitos B periféricos en al menos un 25 %. En otra realización, el agotamiento de los linfocitos B periféricos es de al menos un 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 % o 90 %. En una realización preferida, el agente de agotamiento de los linfocitos B se une específicamente a un glóbulo blanco y no a otros tipos de células. En otra realización, el agente de agotamiento de los linfocitos B se une específicamente a un linfocito B y no a otros tipos de células. En una realización, el agente de agotamiento de linfocitos B es un anticuerpo. En una realización preferida, el anticuerpo es un anticuerpo monoclonal. En otra realización, el anticuerpo se conjuga a un agente quimioterapéutico o un agente citotóxico. Los ejemplos específicos de agentes de agotamiento de linfocitos B incluyen, pero sin limitación, los anticuerpos anti-CD20 anteriormente mencionados, Alemtuzumab (anticuerpo anti-CD52) y Epratuzumab o CMC-544 (Wyeth) (anticuerpos anti-CD22) o anticuerpos anti-BR3 descritos en el presente documento.

La "fase de recuperación de linfocitos B" es la fase de repleción de linfocitos B en un sujeto después de que el tratamiento con un agente terapéutico haya reducido los niveles de linfocitos B en el sujeto hasta sus niveles más bajos. La "fase de recuperación de linfocitos B" es la fase de repleción de linfocitos B en el tejido de un sujeto después de que el tratamiento con un agente terapéutico haya reducido los niveles de linfocitos B en el tejido del sujeto hasta sus niveles más bajos. La "fase de recuperación de los linfocitos B periféricos" es la fase de repleción de los linfocitos B en la sangre periférica de un sujeto después de que el tratamiento con un agente terapéutico haya reducido los niveles de linfocitos B en la sangre periférica del sujeto hasta sus niveles más bajos.

La "fase máxima de agotamiento de linfocitos B" es la etapa de agotamiento máxima de linfocitos B en un sujeto después del tratamiento con un agente terapéutico que reduce los niveles de linfocitos B.

Los "agentes de agotamiento de los linfocitos T" se refieren a agentes que reducen los linfocitos T en al menos un 25 % en la sangre periférica. En otra realización, el agotamiento de los linfocitos T periféricos es de al menos el

30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 % o 90 %. En una realización preferida, el agente de agotamiento de linfocitos T se une específicamente a un linfocito T y no a otros tipos de células. En una realización, el agente de agotamiento de linfocitos T es un anticuerpo o un compuesto químico. En una realización preferida, el anticuerpo es un anticuerpo monoclonal. En otra realización, el anticuerpo se conjuga a un agente quimioterapéutico o a un agente citotóxico.

Los "DMARDS" o "fármacos antirreumáticos modificadores de la enfermedad" son fármacos que retardan los procesos biológicos que son la fuerza impulsora que hay tras la inflamación persistente. Los DMARDS incluyen, pero sin limitación, metotrexato, hidroxicloroquina, sulfasalazina, metotrexato, leflunomida, etanercept, infliximab, azatioprina, D-penicilamina, oro (oral), oro (intramuscular), minociclina, ciclosporina, inmunoadsorción de proteína A estafilocócica.

La expresión "agente inmunosupresor", como se usa en el presente documento, se refiere a sustancias que actúan para suprimir o enmascarar el sistema inmune de un paciente. Dichos agentes incluirían sustancias que suprimen la producción de citocinas, regulan negativamente o suprimen la expresión de autoantígenos, o enmascaran los antígenos MHC. Los ejemplos de dichos agentes incluyen esteroides tales como glucocorticoesteroides, por ejemplo, prednisona, metilprednisolona y dexametasona; pirimidinas 2-amino-6-aryl-5-sustituidas (véase la patente de EE.UU. n.º 4.665.077), azatioprina (o ciclofosfamida, si hay una reacción adversa a la azatioprina); bromocriptina; glutaraldehído (que enmascara los antígenos MHC, según lo descrito en la patente de EE.UU. n.º 4.120.649); anticuerpos anti-idiotípicos para antígenos MHC y fragmentos del MHC; ciclosporina A; antagonistas de citocinas o del receptor de citocinas, incluyendo anticuerpos anti-interferón- γ , - β o - α ; anticuerpos anti-factor de necrosis tumoral α ; anticuerpos anti-factor de necrosis tumoral β ; anticuerpos anti-interleucina-2 y anticuerpos anti-receptor de IL-2; anticuerpos anti-L3T4; globulina anti-linfocitos heteróloga; anticuerpos pan-T, preferentemente anticuerpos anti-CD3 o anti-CD4/CD4a; péptido soluble que contiene un dominio de unión a LFA-3 (documento WO 90/08187 publicado 26/7/90); estreptoquinasa; TGF- β ; estreptodornasa; ARN o ADN del hospedador; FK506; RS-61443; desoxiespergualina; rapamicina; receptor de linfocitos T (patente de EE.UU. n.º 5.114.721.); fragmentos de receptor de linfocitos T (Offner *et al.*, *Science* 251:430-432 (1991), documento WO 90/11294 y documento WO 91/01133); y anticuerpos contra el receptor de linfocitos T (documento EP 340.109) tales como T10B9.

La expresión "trastorno inmunológico" se refiere a trastornos y afecciones en los que una respuesta inmune es aberrante. La respuesta aberrante se puede deber a (a) la proliferación, la maduración, la supervivencia, la diferenciación o la función anómalas de las células inmunes, tales como, por ejemplo, los linfocitos T y/o B. Los ejemplos de trastornos inmunológicos incluyen, pero sin limitación, trastornos del sistema inmune hiperproliferativos, patologías mediadas por anticuerpos, trastornos autoinmunes, trastornos de los linfocitos B, incluyendo trastornos de células plasmáticas, trastornos linfoproliferativos de linfocitos B tales como neoplasias de linfocitos B e hiperplasias de linfocitos B, patologías mediadas por anticuerpos, rechazo de trasplantes, alergias. De acuerdo con una realización, los trastornos inmunológicos presentan, en parte, niveles elevados de BAFF en suero o niveles reducidos de BAFF en suero en comparación con un control (por ejemplo, en comparación con los niveles de BAFF en suero de un sujeto normal, sano).

Una "enfermedad de inmunodeficiencia" es un trastorno o una afección en el que se reduce la respuesta inmune (por ejemplo, la inmunodeficiencia combinada grave ligada a (SCID)-X, SCID-autosómica, deficiencia de adenosina desaminasa (deficiencia de ADA), agammaglobulinemia ligada a X (XLA), enfermedad de Bruton, agammaglobulinemia congénita, agammaglobulinemia infantil ligada a X, agammaglobulinemia adquirida, agammaglobulinemia de inicio en la edad adulta, agammaglobulinemia de inicio tardío, disgammaglobulinemia, hipogammaglobulinemia, hipogammaglobulinemia transitoria de la infancia, hipogammaglobulinemia inespecífica, agammaglobulinemia, inmunodeficiencia variable común (CVID) (adquirida), Síndrome de Wiskott-Aldrich (WAS), inmunodeficiencia ligada a X con hiper IgM, inmunodeficiencia no ligada a X con hiper IgM, deficiencia selectiva de IgA, deficiencia de subclase IgG (con o sin deficiencia de IgA), deficiencia de anticuerpos con Ig normales o elevadas, inmunodeficiencia con timoma, eliminaciones de cadena pesada de Ig, deficiencia de la cadena kappa, trastorno linfoproliferativo de linfocitos B (BLPD), inmunodeficiencia de IgM selectiva, agammaglobulinemia recesiva (tipo suizo), disgenesia reticular, neutropenia neonatal, leucopenia congénita grave, alinfooplasia-aplasia tímica o displasia con inmunodeficiencia, ataxia-telangiectasia telangiectasia (ataxia cerebelosa, telangiectasia oculocutánea e inmunodeficiencia), enanismo de extremidades cortas, síndrome linfoproliferativo ligado a X (XLP), inmunodeficiencia combinada con el síndrome de Nezelof con Ig, deficiencia de nucleótido purina fosforilasa (PNP), deficiencia de MHC de clase II (síndrome de linfocitos de Bare) e inmunodeficiencia combinada grave) o afecciones asociadas con una inmunodeficiencia, deficiencia de quinasa 3 asociada a Janus (JAK3), síndrome de DiGeorge (deficiencia de linfocitos T aislada) y síndromes asociados, por ejemplo, síndrome de Down, candidiasis mucocutánea crónica, síndrome de hiper-IgE, enfermedad granulomatosa crónica, albinismo parcial y síndrome de WHIM (verrugas, hipogammaglobulinemia, infecciones y mielocatexis [retención de leucocitos en médula hiper celular]).

Una "enfermedad autoinmune" en el presente documento es una enfermedad o un trastorno que surge de y se dirige contra los propios tejidos u órganos de un individuo, o una sustancia cosegregada o manifestación de los mismos, o afección resultante. En muchos de estos trastornos autoinmunes e inflamatorios, puede existir un número de marcadores clínicos y de laboratorio, incluyendo, pero sin limitación, hipergammaglobulinemia, niveles elevados de

autoanticuerpos, depósitos de complejos de antígeno-anticuerpo en los tejidos, que se benefician de tratamientos con corticosteroides o inmunosupresores, y agregados de células linfoides en los tejidos afectados. Sin limitarse a ninguna teoría en cuanto a la enfermedad autoinmune mediada por los linfocitos B, se cree que los linfocitos B demuestran un efecto patogénico en las enfermedades autoinmunes humanas a través de una multitud de vías mecánicas, incluyendo la producción de autoanticuerpos, la formación de complejos inmunes, la activación de células dendríticas y linfocitos T, la síntesis de citocinas, la liberación directa de quimiocinas y el suministro de un nido para la neo-linfogénesis ectópica. Cada una de estas vías puede participar en diferentes grados en la patología de las enfermedades autoinmunes.

"Enfermedad autoinmune" puede ser una enfermedad específica de un órgano (es decir, la respuesta inmune se dirige específicamente contra un sistema de órganos tal como el sistema endocrino, el sistema hematopoyético, la piel, el sistema cardiopulmonar, los sistemas gastrointestinal y hepático, el sistema renal, la tiroides, los oídos, el sistema neuromuscular, el sistema nervioso central, etc.) o una enfermedad sistémica que puede afectar a múltiples órganos y sistemas (por ejemplo, lupus eritematoso sistémico (LES), artritis reumatoide, polimiositis, etc.). Dichas enfermedades preferidas incluyen trastornos reumatológicos autoinmunes (tales como, por ejemplo, artritis reumatoide, síndrome de Sjögren, esclerodermia, lupus tal como LES y nefritis por lupus, polimiositis/dermatomiositis, crioglobulinemia, síndrome de anticuerpos anti-fosfolípidos y artritis psoriásica), trastornos gastrointestinales y hepáticos autoinmunes (tales como, por ejemplo, enfermedades inflamatorias del intestino (por ejemplo, colitis ulcerosa y enfermedad de Crohn), gastritis autoinmune y anemia perniciosa, hepatitis autoinmune, cirrosis biliar primaria, colangitis esclerosante primaria y enfermedad celíaca), vasculitis (tales como, por ejemplo, vasculitis asociada con ANCA, incluyendo vasculitis de Churg-Strauss, granulomatosis de Wegener y poliarteritis), trastornos neurológicos autoinmunes (tales como, por ejemplo, esclerosis múltiple, síndrome mioclono opsoclono, miastenia gravis, neuromielitis óptica, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer y polineuropatías autoinmunes), trastornos renales (tales como, por ejemplo, glomerulonefritis, síndrome de Goodpasture y enfermedad de Berger), trastornos dermatológicos autoinmunes (tales como, por ejemplo, psoriasis, urticaria, ronchas, pénfigo vulgar, pénfigoide bulloso y lupus eritematoso cutáneo), trastornos hematológicos (tales como, por ejemplo, púrpura trombocitopénica, púrpura trombocitopénica trombótica, púrpura postransfusional y anemia hemolítica autoinmune), aterosclerosis, uveítis, enfermedades de audición autoinmunes (tales como, por ejemplo, enfermedad del oído interno y pérdida de audición), enfermedad de Behcet, síndrome de Raynaud, trasplante de órganos y trastornos endocrinos autoinmunes (tales como, por ejemplo, enfermedades autoinmunes relacionadas con la diabetes tales como diabetes mellitus insulina dependiente (IDDM), enfermedad de Addison y enfermedad tiroidea autoinmune (por ejemplo, enfermedad de Graves y tiroiditis)). Los ejemplos más preferidos de dichas enfermedades incluyen, por ejemplo, artritis reumatoide, colitis ulcerosa, vasculitis asociada a ANCA, lupus, esclerosis múltiple, síndrome de Sjögren, enfermedad de Graves, IDDM, anemia perniciosa, tiroiditis y glomerulonefritis.

Los ejemplos específicos de otras enfermedades autoinmunes como se definen en el presente documento, que en algunos casos engloban las mencionadas anteriormente, incluyen, pero sin limitación, artritis (aguda y crónica, artritis reumatoide incluyendo la artritis reumatoide de inicio en la juventud y etapas tales como la sinovitis reumatoide, gota o artritis gotosa, artritis inmunológica aguda, artritis inflamatoria crónica, artritis degenerativa, artritis inducida por el colágeno de tipo II, artritis infecciosa, artritis de Lyme, artritis proliferativa, artritis psoriásica, enfermedad de Still, artritis vertebral, artrosis, artritis crónica progresiva, artritis deformante, poliartitis crónica primaria, artritis reactiva, artritis de la menopausia, artritis de agotamiento de estrógenos y espondilitis anquilosante/espondilitis reumatoide), enfermedad linfoproliferativa autoinmune, enfermedades de la piel hiperproliferativas inflamatorias, psoriasis, tales como psoriasis en placa, psoriasis gutatta, psoriasis pustular y psoriasis de las uñas, atopia incluyendo enfermedades atópicas tales como la fiebre del heno y el síndrome de Job, dermatitis incluyendo dermatitis de contacto, dermatitis de contacto crónica, dermatitis exfoliativa, dermatitis alérgica, dermatitis de contacto alérgica, urticaria, dermatitis herpetiforme, dermatitis numular, dermatitis seborreica, dermatitis no específica, dermatitis de contacto irritante primaria y dermatitis atópica, síndrome de hiper IgM ligado a X, enfermedades inflamatorias intraoculares alérgicas, urticarias tales como urticaria alérgica crónica y urticaria idiopática crónica, incluyendo urticaria autoinmune crónica, miositis, polimiositis/dermatomiositis, dermatomiositis juvenil, necrólisis epidérmica tóxica, escleroderma (incluyendo esclerodermia sistémica), esclerosis tales como esclerosis sistémica, esclerosis múltiple (EM), tales como EM espino-óptica, EM primaria progresiva (EMPP) y EM remitente recidivante (EMRR), esclerosis sistémica progresiva, aterosclerosis, arteriosclerosis, esclerosis diseminada, esclerosis atáxica, neuromielitis óptica (NMO), enfermedad inflamatoria del intestino (IBD) (por ejemplo, enfermedad de Crohn, enfermedades gastrointestinales autoinmunes, inflamación gastrointestinal, colitis tales como colitis ulcerativa, colitis ulcerosa, colitis microscópica, colitis colagenosa, colitis poliposa, enterocolitis necrotizante y transmurales colitis y enfermedad inflamatoria autoinmune del intestino), inflamación del intestino, pioderma gangrenoso, eritema nodoso, colangitis esclerosante primaria, síndrome de dificultad respiratoria, incluyendo síndrome de dificultad respiratoria en adultos o agudo (ARDS), meningitis, inflamación de la totalidad o parte de la úvea, iritis, coroiditis, un trastorno hematológico autoinmune, enfermedad del injerto contra huésped, angioedema tal como el angioedema hereditario, daño en los nervios craneales como en la meningitis, herpes gestacional, pénfigoide gestacional, prurito de escroto, insuficiencia ovárica prematura autoinmune, pérdida repentina de la audición debido a una afección autoinmune, enfermedades mediadas por la IgE tales como la anafilaxia y la rinitis alérgica y atópica, encefalitis tal como encefalitis de Rasmussen y encefalitis límbica y/o del tronco cerebral, uveítis tales como uveítis anterior, uveítis anterior aguda, uveítis granulomatosa, uveítis no granulomatosa, uveítis

5 facoantigénica, uveítis posterior o uveítis autoinmune, glomerulonefritis (GN) con y sin síndrome nefrótico tal como glomerulonefritis crónica o aguda tal como GN primaria, GN mediada por el sistema inmune, GN membranosa (nefropatía membranosa), GN idiopática membranosa o nefropatía membranosa idiopática, GN membrano- o membranosa proliferativa (GNMP), incluyendo Tipo I y Tipo II, y GN rápidamente progresiva (GNRP), nefritis
 10 proliferativa, insuficiencia endocrina poliglandular autoinmune, balanitis incluyendo balanitis circunscrita plasmacelularis, balanopostitis, eritema anular centrífugo, eritema discrómico perstans, eritema multiforme, granuloma anular, liquen nítido, liquen escleroso y atrófico, liquen simple crónico, liquen espinuloso, liquen plano, ictiosis lamelar, hiperqueratosis epidermolítica, queratosis premaligna, pioderma gangrenoso, afecciones alérgicas y respuestas, alergias alimentarias, alergias a fármacos, alergias a insectos, trastornos alérgicos raros tales como
 15 mastocitosis, reacciones alérgicas, eczema, incluyendo eczema alérgico o atópico, eczema asteatósico, eczema dishidrótico y eczema palmoplanar vesicular, asma tal como asma bronquial, asma bronquial y asma autoinmune, afecciones que implican la infiltración de linfocitos T y respuestas inflamatorias crónicas, reacciones inmunes contra los antígenos foráneos tales como grupos sanguíneos fetales A-B-O durante el embarazo, enfermedad inflamatoria pulmonar crónica, miocarditis autoinmune, deficiencia de adhesión de los leucocitos, lupus incluyendo nefritis por
 20 lupus, lupus cerebritis, lupus pediátrica, lupus no renal, lupus extrarrenal, lupus discoide y lupus eritematoso discoide, lupus por alopecia, LES tal como LES cutáneo o LES cutáneo subagudo, síndrome de lupus neonatal (NLE) y lupus diseminado eritematoso, diabetes mellitas de inicio juvenil (Tipo I), incluyendo IDDM pediátrica, adulto diabetes mellitas de inicio en la edad adulta (diabetes de Tipo II), diabetes autoinmune, diabetes idiopática insípida, retinopatía diabética, nefropatía diabética, colitis diabética, trastorno diabético de arterias grandes, respuestas
 25 inmunes asociadas con la hipersensibilidad aguda y retardada mediada por citocinas y linfocitos T, tuberculosis, sarcoidosis, granulomatosis, incluyendo granulomatosis linfomatoide, granulomatosis de Wegener, agranulocitosis, vasculitis, incluyendo vasculitis, vasculitis de vasos grandes (incluyendo polimialgia reumática y arteritis de células gigantes (de Takayasu), vasculitis de vasos medianos (incluyendo la enfermedad de Kawasaki y la poliarteritis nodosa/periarteritis nodosa), poliarteritis microscópica, inmunovasculitis, vasculitis del SNC, vasculitis cutánea,
 30 vasculitis por hipersensibilidad, vasculitis necrotizante tal como vasculitis sistémica necrotizante y vasculitis asociada a ANCA, tal como vasculitis o síndrome de Churg-Strauss (CSS) y vasculitis de vasos pequeños asociada a ANCA, arteritis temporal, anemia aplásica, anemia aplásica autoinmune, anemia positiva de Coombs, anemia de Diamond Blackfan, anemia hemolítica o anemia hemolítica inmune incluyendo anemia hemolítica autoinmune (AIHA), anemia perniciosa, enfermedad de Addison, anemia de glóbulos rojos pura o aplasia (PRCA), deficiencia de factor VIII,
 35 hemofilia A, neutropenia/s autoinmune/s, citopenias tales como pancitopenia, leucopenia, enfermedades que implican diapedesis de leucocitos, trastornos inflamatorios del SNC, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, síndrome de lesión múltiple de órganos tal como los secundarios a la septicemia, traumatismo o hemorragia, enfermedades mediadas por complejos de antígeno-anticuerpo, enfermedad anti-membrana basal glomerular, síndrome de anticuerpo anti-fosfolípido, motoneuritis, neuritis alérgica, enfermedad/síndrome de Behçet,
 40 síndrome de Castleman, síndrome de Goodpasture, síndrome de Reynaud, síndrome de Sjögren, síndrome de Stevens-Johnson, penfigoide tal como penfigoide ampolloso y penfigoide cutáneo, pénfigo (incluyendo pénfigo vulgar, pénfigo foliáceo, pénfigo penfigoide moco-membrana y pénfigo eritematoso), poliendocrinopatías autoinmunes, enfermedad o síndrome de Reiter, lesión térmica debida a una afección autoinmune, preeclampsia, un trastorno complejo inmune tal como nefritis compleja inmune, nefritis mediada por anticuerpos, trastornos
 45 neuroinflamatorios, polineuropatías, neuropatía crónica tal como polineuropatías de IgM o neuropatía mediada por IgM, trombocitopenia (desarrollada por pacientes de infarto de miocardio, por ejemplo), incluyendo la púrpura trombocitopénica trombótica (TTP), púrpura post-transfusión (PTP), trombocitopenia inducida por heparina, y trombocitopenia autoinmune o mediada por el sistema inmune incluyendo, por ejemplo, púrpura trombocitopénica idiopática (ITP), incluyendo ITP crónica o aguda, escleritis tal como cerato-escleritis idiopática, episcleritis,
 50 enfermedad autoinmune del testículo y el ovario incluyendo orquitis autoinmune y ooforitis, hipotiroidismo primario, hipoparatiroidismo, enfermedades endocrinas autoinmunes incluyendo tiroiditis tales como tiroiditis autoinmune, enfermedad de Hashimoto, tiroiditis crónica (tiroiditis de Hashimoto) o tiroiditis subaguda, enfermedad tiroidea autoinmune, hipotiroidismo idiopático, enfermedad de Grave, síndromes poliglandulares tales como síndromes poliglandulares autoinmunes, por ejemplo, de tipo I (o síndromes de endocrinopatía oliglandular), síndromes
 55 paraneoplásicos, incluyendo síndromes paraneoplásicos neurológicos tales como el síndrome miasténico de Lambert-Eaton o el síndrome de Eaton-Lambert, síndrome del hombre rígido o de la persona rígida, encefalomiелitis tales como encefalomiелitis alérgica y encefalomiелitis alérgica experimental (EAE), miastenia grave, tal como miastenia grave asociada con timoma, degeneración cerebelosa, neuromiotonía, opsoclon o síndrome de mioclonía opsoclon (OMS), y neuropatía sensorial, neuropatía motora multifocal, síndrome de Sheehan, hepatitis autoinmune,
 60 hepatitis crónica, hepatitis lupoide, hepatitis de células gigantes, hepatitis activa crónica o hepatitis activa crónica autoinmune, neumonitis tales como neumonitis intersticial linfoide (LIP), bronquiолitis obliterante (no trasplantados) frente a NSIP, síndrome de Guillain-Barré, enfermedad de Berger (nefropatía de IgA), nefropatía de IgA idiopática, dermatosis de IgA lineal, dermatosis neutrofilica febril aguda, dermatosis pustulosa subcórnea, dermatosis acantolítica transitoria, cirrosis tal como cirrosis biliar primaria y pneumonocirrosis, síndrome de enteropatía autoinmune, enfermedad celiaca o celiacía, esprúe celiaco (enteropatía por gluten), esprúe refractario, esprúe idiopático, crioglobulinemia tal como crioglobulinemia mixta, esclerosis lateral amiotrófica (ELA; enfermedad de Lou Gehrig), enfermedad de las arterias coronarias, enfermedad del oído autoinmune tal como la enfermedad autoinmune del oído interno (AIED), pérdida de la audición autoinmune, policondritis tal como policondritis refractaria o en recaída o recidivante, proteinosis alveolar pulmonar, síndrome de Cogan/queratitis intersticial no sifilítica,
 65 parálisis de Bell, enfermedad/síndrome de Sweet, rosácea autoinmune, dolor asociado a zóster, amiloidosis, una linfocitosis no cancerosa, una linfocitosis primaria, que incluye linfocitosis de linfocitos B monoclonales (por ejemplo,

gammapatía monoclonal benigna y gammapatía monoclonal de significado incierto, MGUS), neuropatía periférica, síndrome paraneoplásico, canalopatías tales como epilepsia, migraña, arritmias, trastornos musculares, sordera, ceguera, parálisis periódica y canalopatías del SNC, autismo, miopatía inflamatoria, glomeruloesclerosis focal o segmentaria o focal y segmentaria (FSGS), oftalmopatía endocrina, uveorretinitis, coriorretinitis, trastorno de hepatología autoinmune, fibromialgia, insuficiencia endocrina múltiple, síndrome de Schmidt, adenitis, atrofia gástrica, demencia presenil, enfermedades desmielinizantes tales como enfermedades autoinmunes desmielinizantes y polineuropatía desmielinizante inflamatoria crónica, síndrome de Dressler, alopecia areata, alopecia total, síndrome de CREST (calcinosis, fenómeno de Raynaud, alteración de la motilidad esofágica, esclerodactilia y telangiectasia), infertilidad autoinmune masculina y femenina, por ejemplo, debido a los anticuerpos anti-espermatozoide, enfermedad del tejido conjuntivo mixto, enfermedad de Chagas, fiebre reumática, aborto recurrente, pulmón de granjero, eritema multiforme, síndrome de poscardiotomía, síndrome de Cushing, pulmón de cuidador de aves, angitis granulomatosa alérgica, angitis linfocítica benigna, síndrome de Alport, alveolitis tal como alveolitis alérgica y alveolitis fibrosante, enfermedad pulmonar intersticial, reacción a la transfusión, lepra, malaria, enfermedades parasitarias tales como la leishmaniosis, tripanosomiasis, esquistosomiasis, ascariasis, aspergilosis, síndrome de Sampter, síndrome de Caplan, dengue, endocarditis, fibrosis endomiocárdica, fibrosis pulmonar intersticial difusa, fibrosis pulmonar intersticial, mediastinitis fibrosa, fibrosis pulmonar, fibrosis pulmonar idiopática, fibrosis quística, endoftalmitis, eritema elevatum et diutinum, eritroblastosis fetal, fascitis eosinofílica, síndrome de Shulman, síndrome de Felty, flarisis, ciclitis tal como ciclitis crónica, ciclitis heterocrónica, iridociclitis (aguda o crónica) o ciclitis de Fuch, púrpura de Henoch-Schonlein, virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), SCID, síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), infección por ecovirus, sepsis (síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS)), endotoxemia, pancreatitis, tioxocosis, infección por parvovirus, infección por el virus de la rubéola, síndromes posteriores a la vacunación, infección de rubéola congénita, infección por el virus de Epstein-Barr, paperas, síndrome de Evan, insuficiencia gonadal autoinmune, corea de Sydenham, nefritis postestreptocócica, tromboangitis obliterans, tioxocosis, tabes dorsal, corioiditis, polimialgia de células gigantes, neumonitis por hipersensibilidad crónica, conjuntivitis tales como catarro primaveral, queratoconjuntivitis seca y queratoconjuntivitis epidémica, síndrome nefrítico idiopático, nefropatía con cambios mínimos, lesión por isquemia-reperfusión y familiar benigna, reperfusión de órganos transplantados, autoinmunidad de la retina, inflamación de las articulaciones, bronquitis, enfermedad obstructiva crónica de las vías respiratorias/pulmonar, silicosis, aftas, estomatitis aftosa, trastornos arterioscleróticos (insuficiencia vascular cerebral) tal como encefalopatía arteriosclerótica y retinopatía arteriosclerótica, aspermatogénesis, hemólisis autoinmune, enfermedad de Boeck, crioglobulinemia, contractura de Dupuytren, endoftalmia facoanafiláctica, enteritis alérgica, eritema nodoso leproso, parálisis facial idiopática, síndrome de fatiga crónica, fiebre reumática, enfermedad de Hamman-Rich, pérdida auditiva sensorineural, hemoglobinuria paroxística, hipogonadismo, ileítis regional, leucopenia, mononucleosis infecciosa, mielitis transversal, mixedema idiopático primario, nefrosis, oftalmia simpática, orquitis granulomatosa, pancreatitis, polirradiculitis aguda, pioderma gangrenoso, tireoiditis de Quervain, atrofia escénica adquirida, timoma no maligna, tinitis linfociliar, vitiligo, síndrome de choque tóxico, envenenamiento alimentario, afecciones que implican infiltración de linfocitos T, deficiencia de adhesión leucocitaria, respuestas inmunes asociadas con hipersensibilidad aguda y retardada mediada por citocinas y linfocitos T, enfermedades que implican diapedesis leucocitaria, síndrome de lesión orgánica múltiple, enfermedades mediadas por complejos de antígeno-anticuerpo, enfermedad de la membrana basal glomerular, poliendocrinopatías autoinmunes, ooforitis, mixedema primario, gastritis atrófica autoinmune, oftalmia simpática, enfermedades reumáticas, enfermedad de tejido conjuntivo mixto, síndrome nefrítico, insulinitis, insuficiencia poliendocrina, síndromes poliglandulares autoinmunes, incluyendo el síndrome poliglandular de tipo I, hipoparatiroidismo idiopático de aparición en la edad adulta (AOIH), cardiomiopatía tal como cardiomiopatía dilatada, epidermolisis bullosa adquirida (EBA), hemocromatosis, miocarditis, síndrome nefrítico, colangitis esclerosante primaria, sinusitis purulenta o no purulenta, sinusitis aguda o crónica, sinusitis etmoidal, frontal maxilar o esferoide, sinusitis alérgica y un trastorno relacionado con los eosinófilos tal como eosinofilia, eosinofilia por infiltración pulmonar, síndrome de eosinofilia-mialgia, síndrome de Löffler, neumonía eosinofílica crónica, eosinofilia pulmonar tropical, aspergilosis bronconeumónica, aspergiloma o granulomas que contienen eosinófilos, anafilaxis, espondiloartropatías, espondiloartropatías seronegativas, enfermedad autoinmune poliendocrina, colangitis esclerosante, candidiasis monoclónica crónica, esclerótica o episclerótica, síndrome de Bruton, hipogammaglobulinemia transitoria de la infancia, síndrome de Wiskott-Aldrich, síndrome de ataxia-telangiectasia, angiectasia, trastornos autoinmunes asociados con la enfermedad del colágeno, reumatismo tal como artrorreumatismo crónico, linfadenitis, reducción de la respuestas de la presión sanguínea, disfunción vascular, lesión tisular, isquemia cardiovascular, hiperalgesia, isquemia renal, isquemia cerebral y enfermedad que acompaña a la vascularización, trastornos de hipersensibilidad alérgica, glomerulonefritis, lesión por repercusión, trastorno de repercusión isquémica, lesión por repercusión de tejido miocárdico o de otros tejidos, traqueobronquitis linfomatosa, dermatosis inflamatorias, dermatosis con componentes inflamatorios agudos, insuficiencia orgánica múltiple, enfermedades bullosas, necrosis cortical renal, meningitis purulenta aguda u otros trastornos inflamatorios del sistema nervioso central, trastornos inflamatorios oculares y orbitales, síndromes asociados con la transfusión de granulocitos, toxicidad inducida por citocinas, narcolepsia, inflamación grave aguda, inflamación intratable crónica, pielitis, hiperplasia endoarterial, úlcera péptica, vulvitis y endometriosis.

Los ejemplos de trastornos del sistema inmune hiperproliferativos incluyen, pero sin limitación, linfoma no Hodgkin (NHL), leucemia linfocítica crónica (CLL), leucemia linfocítica aguda (ALL), el linfoma de células del manto, tumores relacionados con la zona marginal, linfoma folicular (FL), linfoma de células grandes, tal como linfoma difuso de linfocitos B grandes, linfoma de Burkitt, trastornos de células plasmáticas tales como mieloma múltiple.

Los ejemplos de patologías mediadas por anticuerpos incluyen, pero sin limitación, ITP, miastenia grave, anemia hemolítica autoinmune (autoanticuerpos de eritrocitos), tiroiditis de Hashimoto (autoanticuerpos de tiroides), miastenia grave (autoanticuerpos de receptor de acetilcolina), enfermedad de Grave caracteriza por bocio difuso e hipertiroidismo (autoanticuerpos del receptor de tirotrópina) y síndrome de Goodpasture comprende autoanticuerpos anti-GBM.

Las neoplasias de linfocitos B incluyen la enfermedad de Hodgkin incluyendo la enfermedad de Hodgkin predominante en linfocitos (LPHD); linfoma no Hodgkin (NHL); linfomas de células centrales foliculares (FCC); leucemia linfocítica aguda (CLL); leucemia linfocítica crónica (CLL); y leucemia de células pilosas. El linfoma no Hodgkin incluye linfoma no Hodgkin de grado bajo/folicular (NHL), NHL linfocítico pequeño (SL), NHL de grado intermedio/folicular, NHL difuso de grado intermedio, NHL inmunoblástico de alto grado, NHL linfoblástico de alto grado, NHL de células pequeñas no escindidas de alto grado, NHL de enfermedad voluminosa, linfoma linfocítico plasmocitoides, linfoma de células del manto, linfoma relacionado con el SIDA y macroglobulinemia de Waldenström. También se contempla el tratamiento de las recaídas de estos tipos de cáncer. La LPHD es un tipo de enfermedad de Hodgkin que tiende a la recaída frecuentemente a pesar de la radiación o la quimioterapia. La CLL es una de los cuatro tipos principales de leucemia. Un cáncer de linfocitos B maduros denominados linfocitos, la CLL se manifiesta mediante la acumulación progresiva de las células en la sangre, la médula ósea y los tejidos linfáticos. El linfoma indolente es una enfermedad incurable, de crecimiento lento, en la que el paciente medio sobrevive entre seis y 10 años después de numerosos períodos de remisión y recaída.

La expresión "linfoma no Hodgkin" o "NHL", como se usa en el presente documento, se refiere a un cáncer del sistema linfático distinto de los linfomas de Hodgkin. Los linfomas de Hodgkin, en general, se pueden distinguir de los linfomas no Hodgkin por la presencia células de Reed-Sternberg en los linfomas de Hodgkin y la ausencia de dichas células en los linfomas no Hodgkin. Los ejemplos de linfomas no Hodgkin englobados por la expresión usada en el presente documento incluyen cualquiera que sería identificado como tal por los expertos en la materia (por ejemplo, un oncólogo o patólogo) de acuerdo con los esquemas de clasificación conocidos en la técnica, tales como el esquema de los linfomas europeo y estadounidense revisado (REAL) descrito en "Color Atlas of Clinical Hematology", tercera edición; A. Victor Hoffbrand y John E. Pettit (eds.) (Harcourt Publishers Limited 2000) (véase, en particular, las Fig. 11.57, 11.58 y/o 11.59). Los ejemplos más específicos incluyen, pero sin limitación, NHL en recaída o refractario, NHL de bajo grado de primera línea, NHL en fase III/IV, NHL resistente a la quimioterapia, linfoma y/o leucemia linfoblástica B precursora, linfoma de linfocitos pequeños, leucemia linfocítica crónica de linfocitos B y/o leucemia prolinfocítica y/o linfoma linfocítico pequeño, linfoma prolinfocítico de linfocitos B, inmunocitoma y/o linfoma linfoplasmacítico, linfoma de linfocitos B de la zona marginal, linfoma de la zona marginal esplénica, linfoma MALT - de la zona marginal extranodal, linfoma de la zona marginal nodal, leucemia de células pilosas, plasmocitoma y/o mieloma de células plasmáticas, linfoma de bajo grado/folicular, NHL de grado intermedio/folicular, linfoma de células del manto, linfoma del centro del folículo (folicular), NHL difuso de grado intermedio, linfoma difuso de linfocitos B grandes, NHL agresivo (incluyendo NHL de primera línea agresivo y NHL recurrente agresivo), NHL recurrente posterior o refractario al trasplante autólogo de células madre, linfoma de linfocitos B grandes del mediastino primario, linfoma de efusión primario, NHL inmunoblástico de alto grado, NHL linfoblástico de alto grado, NHL de alto grado de células pequeñas no escindidas, NHL de enfermedad voluminosa, linfoma de Burkitt, leucemia y/o linfoma linfoblástico de linfocitos T precursores (periféricos), linfoma y/o leucemia de linfocitos T en adultos, leucemia linfocítica crónica de linfocitos T y/o leucemia prolinfocítica, leucemia linfocítica granular grande, micosis fungoide y/o síndrome de Sezary, linfoma de linfocitos T/linfocitos citotóxicos naturales extranodales (tipo nasal), linfoma de linfocitos T de tipo enteropático, linfoma de linfocitos T hepatosplénico, linfoma de linfocitos T de tipo paniculitis subcutánea, linfomas de piel (cutáneos), linfoma de células grandes anaplásico, linfoma angiocéntrico, linfoma de linfocitos T intestinal, linfoma periférico de linfocitos T (no especificado de otro tipo) y linfoma de linfocitos T angioinmunoblástico.

Los términos "cáncer" y "canceroso" se refieren o describen la afección fisiológica en mamíferos que se caracteriza normalmente por un crecimiento celular no regulado. Los ejemplos de cáncer incluyen, pero sin limitación, carcinoma, linfoma, blastoma, sarcoma y leucemia. Más ejemplos particulares de dichos cánceres incluyen cáncer de células escamosas, cáncer de pulmón (incluyendo cáncer de pulmón de células pequeñas, cáncer de pulmón de células no pequeñas, adenocarcinoma del pulmón y carcinoma escamoso de pulmón), cáncer del peritoneo, cáncer hepatocelular, cáncer gástrico o de estómago (incluyendo cáncer gastrointestinal), cáncer pancreático, glioblastoma, cáncer cervical, cáncer de ovario, cáncer de hígado, cáncer de vejiga, hepatoma, cáncer de mama, cáncer de colon, cáncer colorrectal, carcinoma endometrial o uterino, carcinoma de glándulas salivares, cáncer de riñón o renal, cáncer de hígado, cáncer de próstata, cáncer de vulva, cáncer de tiroides, carcinoma hepático y diversos tipos de cáncer de cabeza y cuello, así como linfoma de linfocitos B (incluyendo linfoma no Hodgkin de bajo grado/folicular (NHL); NHL linfocítico pequeño (SL); NHL de grado intermedio/folicular; NHL difuso de grado intermedio; NHL inmunoblástico de alto grado; NHL linfoblástico de alto grado; NHL de células pequeñas no escindidas de alto grado; NHL de enfermedad voluminosa; linfoma de células del manto; linfoma relacionado con el SIDA; y macroglobulinemia de Waldenström); leucemia linfocítica crónica (CLL); leucemia linfoblástica aguda (ALL); leucemia de células pilosas; leucemia mieloblástica crónica; mieloma múltiple y trastorno linfoproliferativo posterior a un trasplante (PTLD).

Como se usa en el presente documento, el término "inmuno adhesina" designa moléculas que combinan la

especificidad de unión de una proteína heteróloga (una "adhesina") con las funciones efectoras de dominios constantes de inmunoglobulina. Estructuralmente, las inmunoadhesinas comprenden una fusión de una secuencia de aminoácidos con una especificidad de unión deseada, siendo la secuencia de aminoácidos distinta del sitio de unión y reconocimiento de antígenos de un anticuerpo (es decir, siendo "heteróloga"), y una secuencia de dominio constante de inmunoglobulina (por ejemplo, secuencia de CH₂ y/o CH₃ de una IgG). Las secuencias de adhesina ilustrativas incluyen secuencias de aminoácidos contiguos que comprenden una parte de un receptor o un ligando que se une a una proteína de interés. Las secuencias de adhesina también pueden ser secuencias que se unen a una proteína de interés, pero no son secuencias de receptor ni de ligando (por ejemplo, secuencias de adhesina de peptidocuerpos). Dichas secuencias polipeptídicas se pueden seleccionar o identificar mediante diversos métodos, incluyendo técnicas de presentación en fagos y métodos de clasificación de alto rendimiento. La secuencia de dominio constante de inmunoglobulina de la inmunoadhesina puede obtenerse a partir de cualquier inmunoglobulina, tal como los subtipos IgG-1, IgG-2, IgG-3 o IgG-4, IgA (incluyendo IgA-1 e IgA-2), IgE, IgD o IgM.

La expresión "región Fc", en el presente documento, se usa para definir una región C-terminal de una cadena pesada de inmunoglobulina, incluyendo regiones Fc de la secuencia nativa y regiones Fc variantes. Aunque los límites de la región Fc de una cadena pesada de inmunoglobulina podrían variar, la región Fc de la cadena pesada de IgG humana normalmente se define como la que se extiende desde el aminoácido de la posición Cys226 o de la posición Pro230 hasta el extremo carboxilo de la misma. La lisina C-terminal (resto 447 de acuerdo con el sistema de numeración de la UE) de la región Fc puede eliminarse, por ejemplo, durante la producción o purificación de un anticuerpo o de una inmunoadhesina, o diseñando de manera recombinante la región Fc para eliminar el K447. Por consiguiente, una composición de anticuerpos o inmunoadhesinas, por ejemplo, como la expuesta en el presente documento, puede comprender poblaciones con todos los restos K447 eliminados, poblaciones sin restos K447 eliminados y poblaciones que tienen una mezcla de anticuerpos con y sin el resto K447.

A menos que se indique lo contrario, en el presente documento, la numeración de los restos de una cadena pesada de inmunoglobulina es la del índice EU como en Kabat *et al.*, "Sequences of Proteins of Immunological Interest", 5ª Ed. Servicio de Salud Pública, Institutos Nacionales de Salud, Bethesda, MD (1991). El "índice de la UE como en Kabat" se refiere a la numeración de los restos del anticuerpo de UE IgG1 humano.

El término "anticuerpo" se usa en el sentido más amplio y cubre específicamente, por ejemplo, anticuerpos monoclonales individuales (incluyendo anticuerpos agonistas, antagonistas y neutralizantes), composiciones de anticuerpos con especificidad poliepitópica, anticuerpos policlonales, anti-anticuerpos monocatenarios y fragmentos de anticuerpos (véase más adelante), siempre y cuando se unan específicamente a un polipéptido nativo y/o presenten una actividad biológica o actividad inmunológica necesaria en la presente invención. De acuerdo con una realización, el anticuerpo se une a una forma oligomérica de una proteína diana, por ejemplo, una forma trimérica. De acuerdo con otra realización, el anticuerpo se une específicamente a una proteína, unión que puede ser inhibida por un anticuerpo monoclonal para su uso en la presente invención (por ejemplo, un anticuerpo depositado para su uso en la presente invención, etc.). La expresión "fragmento funcional o análogo" de un anticuerpo es un compuesto que tiene una actividad biológica cualitativa en común con un anticuerpo al que se está haciendo referencia. Por ejemplo, un fragmento funcional o análogo de un anticuerpo para su uso en la presente invención puede ser aquel que se pueda unir específicamente a un antígeno de superficie de linfocito B. El término "inmunoglobulina" (Ig) se usa indistintamente con "anticuerpo" en el presente documento.

Un "anticuerpo aislado" es aquel que se ha identificado y separado y/o recuperado de un componente de su entorno natural. Los componentes contaminantes de su entorno natural son materiales que interferirían con los usos diagnósticos o terapéuticos para el anticuerpo, y pueden incluir enzimas, hormonas y otros solutos proteicos o no proteicos. En realizaciones preferidas, el anticuerpo se purificará (1) hasta más del 95 % en peso de anticuerpo según lo determinado mediante el método de Lowry, y lo más preferentemente más del 99 % en peso; (2) hasta un grado suficiente para obtener al menos 15 restos de secuencia de aminoácidos N-terminal o interna mediante el uso de un secuenciador de copa giratoria; o (3) hasta la homogeneidad mediante SDS-PAGE en condiciones reductoras o no reductoras usando azul de Coomassie o, preferentemente, tinción de plata. El anticuerpo aislado incluye el anticuerpo *in situ* dentro de células recombinantes, ya que al menos un componente del entorno natural del anticuerpo no estará presente. Sin embargo, habitualmente, el anticuerpo aislado se preparará mediante al menos una etapa de purificación.

La unidad básica de anticuerpo de 4 cadenas es una glicoproteína heterotetramérica compuesta de dos cadenas ligeras (L) idénticas y dos cadenas pesadas (H) idénticas (un anticuerpo IgM consiste en 5 de la unidad heterotetramérica básica junto con un polipéptido adicional denominado cadena J y, por lo tanto, contiene 10 sitios de unión al antígeno, mientras que los anticuerpos IgA secretados pueden polimerizarse para formar ensamblajes polivalentes que comprenden de 2 a 5 de las unidades básicas de 4 cadenas junto con la cadena J). En el caso de las IgG, la unidad de 4 cadenas es generalmente de aproximadamente 150.000 Da. Cada cadena L está unida a una cadena H mediante un enlace disulfuro covalente, mientras que las dos cadenas H están unidas entre sí por uno o más enlaces disulfuro, dependiendo del isotipo de la cadena H. Cada cadena H y L también tienen espaciados regularmente puentes disulfuro intracatenarios. Cada cadena H tiene, en el extremo N-terminal, un dominio variable (V_H) seguido de tres dominios constantes (C_H) para cada una de las cadenas α y γ, y cuatro dominios C_H para los isotipos μ y ε. Cada cadena L tiene, en el extremo N-terminal, un dominio variable (V_L) seguido de un dominio

constante (C_L) en su otro extremo. El V_L está alineado con el V_H y el C_L está alineado con el primer dominio constante de la cadena pesada (C_H1). Se cree que los restos de aminoácidos particulares forman una superficie de contacto entre los dominios variables de cadena ligera y de cadena pesada. El emparejamiento de un V_H y V_L entre sí forma un solo sitio de unión al antígeno. Para la estructura y las propiedades de las diferentes clases de anticuerpos, véase, por ejemplo, "Basic and Clinical Immunology", 8ª edición, Daniel P. Stites, Abba I. Terr y Tristram G. Parslow (eds.), Appleton & Lange, Norwalk, CT, 1994, página 71 y Capítulo 6.

La cadena L de cualquier especie de vertebrado se puede asignar a uno de dos tipos claramente distintos, denominados kappa y lambda, basándose en las secuencias de aminoácidos de sus dominios constantes. Dependiendo de la secuencia de aminoácidos del dominio constante de sus cadenas pesadas (C_H), las inmunoglobulinas se pueden asignar a diferentes clases o isotipos. Hay cinco clases de inmunoglobulinas: IgA, IgD, IgE, IgG e IgM, que tienen cadenas pesadas designadas α , δ , γ , ϵ y μ , respectivamente. Las clases γ y α se dividen además en subclases basándose en las diferencias relativamente menores en la secuencia y la función de C_H , por ejemplo, los seres humanos expresan las siguientes subclases: IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 y IgA2.

El término "variable" se refiere al hecho de que determinados segmentos de los dominios variables difieren ampliamente en la secuencia entre los anticuerpos. El dominio V media en la unión al antígeno y define la especificidad de un determinado anticuerpo por su antígeno en particular. Sin embargo, la variabilidad no se distribuye uniformemente a lo largo de los 110 aminoácidos de los dominios variables. En cambio, las regiones V consisten en tramos relativamente invariables denominados regiones marco conservadas (FR) de 15 a 30 aminoácidos separadas por regiones más cortas de variabilidad extrema denominadas "regiones hipervariables", que son cada una de 9 a 12 aminoácidos de longitud. Los dominios variables de cadenas pesadas y ligeras nativas comprenden cada uno cuatro FR, adoptando en gran medida una configuración de lámina *, conectada por tres regiones hipervariables, que forman bucles que conectan, y en algunos casos forman parte de la estructura de lámina *. Las regiones hipervariables de cada cadena se mantienen juntas muy próximas entre sí por las FR y, con las regiones hipervariables de la otra cadena, contribuyen a la formación del sitio de unión al antígeno de los anticuerpos (véase Kabat *et al.*, "Sequences of Proteins of Immunological Interest", 5ª Ed. Servicio de Salud Pública, Institutos Nacionales de Salud, Bethesda, MD. (1991)). Los dominios constantes no participan directamente en la unión de un anticuerpo a un antígeno, pero presentan diversas funciones efectoras, tal como la participación del anticuerpo en la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC).

La expresión "región hipervariable", cuando se usa en el presente documento, se refiere a los restos de aminoácidos de un anticuerpo que son responsables de la unión al antígeno. En general, la región hipervariable comprende restos de aminoácidos de una "región determinante de la complementariedad" o "CDR" (por ejemplo, alrededor de aproximadamente los restos 24-34 (L1), 50-56 (L2) y 89-97 (L3) en la V_L , y alrededor de aproximadamente 31-35B (H1), 50-65 (H2) y 95-102 (H3) en la V_H (Kabat *et al.*, "Sequences of Proteins of Immunological Interest", 5ª Ed. Servicio de Salud Pública, Institutos Nacionales de Salud, Bethesda, MD. (1991)) y/o aquellos restos de un "bucle hipervariable" (por ejemplo, los restos 26-32 (L1), 50-52 (L2) y 91-96 (L3) de V_L , y 26-32 (H1), 53-55 (H2) y 96-101 (H3) de V_H ; Chothia y Lesk *J. Mol. Biol.* 196:901-917 (1987)).

La expresión "anticuerpo monoclonal", como se usa en el presente documento, se refiere a un anticuerpo de una población de anticuerpos esencialmente homogéneos, es decir, los anticuerpos individuales que comprenden la población son idénticos y/o se unen al/a los mismo/s epítopo/s, a excepción de posibles variantes que pueden surgir durante la producción del anticuerpo monoclonal, estando, en general, dichas variantes presentes en cantidades menores. Dicho anticuerpo monoclonal normalmente incluye un anticuerpo que comprende una secuencia polipeptídica que se une a una diana, en el que la secuencia polipeptídica de unión a la diana se obtuvo mediante un proceso que incluye la selección de una sola secuencia polipeptídica de unión a la diana de una pluralidad de secuencias polipeptídicas. Por ejemplo, el proceso de selección puede ser la selección de un solo clon de una pluralidad de clones, tal como un grupo de clones de hibridomas, clones de fagos o clones de ADN recombinante. Se ha de entender que la secuencia de unión a la diana seleccionada se puede modificar más, por ejemplo, para mejorar la afinidad por la diana, para humanizar la secuencia de unión a la diana, para mejorar su producción en el cultivo celular, para reducir su inmunogenicidad *in vivo*, para crear un anticuerpo multiespecífico, etc., y que un anticuerpo que comprende la secuencia de unión a la diana modificada también es un anticuerpo monoclonal para su uso en la presente invención. En contraste con las preparaciones de anticuerpos policlonales que normalmente incluyen diferentes anticuerpos dirigidos contra diferentes determinantes (epítopos), cada anticuerpo monoclonal de un preparado de anticuerpos monoclonales se dirige contra un solo determinante en un antígeno. Además de su especificidad, los preparados de anticuerpos monoclonales tienen la ventaja de que normalmente no están contaminados por otras inmunoglobulinas. El modificador "monoclonal" indica el carácter del anticuerpo como el obtenido de una población esencialmente homogénea de anticuerpos, y no debe interpretarse como que requiere la producción del anticuerpo mediante cualquier procedimiento en particular. Por ejemplo, los anticuerpos monoclonales que se van a usar de acuerdo con la presente invención se pueden preparar mediante varias técnicas, incluyendo, por ejemplo, el método del hibridoma (por ejemplo, Kohler *et al.*, *Nature*, 256:495 (1975); Harlow *et al.*, "Antibodies: A Laboratory Manual", (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2ª ed. 35 1988); Hammerling *et al.*, en: "Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas", 563-681, (Elsevier, N.Y., 1981)), métodos de ADN recombinante (véase, por ejemplo, la patente de EE.UU. n.º 4.816.567), tecnologías de presentación en fagos (véase, por ejemplo, Clackson *et al.*, *Nature*, 352:624-628 (1991); Marks *et al.*, *J. Mol. Biol.*, 222:581-597 (1991); Sidhu *et al.*, *J. Mol. Biol.*

338(2):299-310 (2004); Lee *et al.*, *J. Mol. Biol.* 340(5):1073-1093 (2004); Fellouse, *Proc. Nat. Acad. Sci. EE.UU.* 101(34):12467-12472 (2004); y Lee *et al.* *J. Immunol. Methods* 284(1-2):119-132 (2004), y tecnologías de producción de anticuerpos humanos o de tipo humano en animales que tienen partes o la totalidad de los locus de inmunoglobulina humana o genes que codifican secuencias de inmunoglobulina humana (véanse, por ejemplo, los documentos WO 1998/24893; WO 1996/34096; WO 1996/33735; WO 1991/10741; Jakobovits *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU.*, 90:2551 (1993); Jakobovits *et al.*, *Nature*, 362:255-258 (1993); Bruggemann *et al.*, *Year in Immuno.*, 7:33 (1993); patentes de EE.UU. n.º 5.545.806; 5.569.825; 5.591.669 (todas de GenPharm); documento 5.545.807; documento WO 1997/17852; patentes de EE.UU. n.º 5.545.807; 5.545.806; 5.569.825; 5.625.126; 5.633.425; y 5.661.016; Marks *et al.*, *Bio/Technology*, 10: 779-783 (1992); Lonberg *et al.*, *Nature*, 368: 856-859 (1994); Morrison, *Nature*, 368: 812-813 (1994); Fishwild *et al.*, *Nature Biotechnology*, 14: 845-851 (1996); Neuberger, *Nature Biotechnology*, 14: 826 (1996); y Lonberg y Huszar, *Intern. Rev. Immunol.*, 13: 65-93 (1995).

Los anticuerpos monoclonales del presente documento incluyen anticuerpos "quiméricos" en los que una parte de la cadena pesada y/o ligera es idéntica u homóloga a las secuencias correspondientes de los anticuerpos derivados de una especie en particular o que pertenecen a una clase o subclase de anticuerpo en particular, mientras que el resto de la/s cadena/s es idéntico u homólogo a las secuencias correspondientes de anticuerpos derivados de otras especies o pertenecientes a otra clase o subclase de anticuerpo, así como fragmentos de dichos anticuerpos, siempre que muestren una actividad biológica necesaria en la presente invención (véase la patente de EE.UU. n.º 4.816.567; y Morrison *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU.*, 81: 6851-6855 (1984)). Los anticuerpos quiméricos de interés en el presente documento incluyen anticuerpos "primatizados" que comprenden secuencias de unión al antígeno de dominio variable derivadas de un primate no humano, (por ejemplo, mono del viejo mundo, simio, etc.), y secuencias de región constante humanas.

Un anticuerpo "intacto" es aquel que comprende un sitio de unión al antígeno, así como una C_L y al menos los dominios constantes de cadena pesada, C_{H1}, C_{H2} y C_{H3}. Los dominios constantes pueden ser dominios constantes de secuencia nativa (por ejemplo, dominios constantes de secuencia humana nativa) o variante de secuencia de aminoácidos de los mismos. Preferentemente, el anticuerpo intacto tiene una o más funciones efectoras.

Los "fragmentos de anticuerpo" comprenden una parte de un anticuerpo intacto, preferentemente la región de unión al antígeno o región variable del anticuerpo intacto. Los ejemplos de fragmentos de anticuerpo incluyen Fab, Fab', F(ab')₂ y fragmentos Fv; diacuerpos; anticuerpos lineales (véase la patente de EE.UU. n.º 5.641.870, Ejemplo 2; Zapata *et al.*, *Protein Eng.* 8(10):1057-1062 [1995]); moléculas de anticuerpo monocatenarias; y anticuerpos multiespecíficos formados a partir de fragmentos de anticuerpos u otras técnicas.

La expresión "anticuerpos lineales" se refiere, en general, a los anticuerpos descritos en Zapata *et al.*, *Protein Eng.* 8(10):1057-1062 (1995). En resumen, estos anticuerpos comprenden un par de segmentos Fd en tándem (VH-CH1-VH-CH1) que, junto con los polipéptidos de cadena ligera complementaria, forman un par de regiones de unión al antígeno. Los anticuerpos lineales pueden ser biespecíficos o monoespecíficos.

La digestión con papaína de anticuerpos produce dos fragmentos idénticos de unión al antígeno, denominados fragmentos "Fab" y un fragmento "Fc" residual, una designación que refleja la capacidad de cristalizar fácilmente. El fragmento Fab consiste en toda una cadena L junto con el dominio de la región variable de la cadena H (V_H), y el primer dominio constante de una cadena pesada (C_{H1}). Cada fragmento Fab es monovalente con respecto a la unión al antígeno, es decir, tiene un solo sitio de unión al antígeno. El tratamiento con pepsina de un anticuerpo produce un único fragmento F(ab')₂ grande que corresponde aproximadamente a dos fragmentos Fab con enlace disulfuro que tienen actividad de unión al antígeno divalente y todavía es capaz de reticular el antígeno. Los fragmentos Fab' difieren de los fragmentos Fab en que tienen unos cuantos restos adicionales en el extremo carboxi del dominio C_{H1}, incluyendo una o más cisteínas de la región bisagra del anticuerpo. Fab'-SH es la designación en el presente documento para Fab' en el que el/los resto/s de cisteína de los dominios constantes portan un grupo tiol libre. Los fragmentos de anticuerpo F(ab')₂ se produjeron originalmente como pares de fragmentos Fab' que tienen cisteínas bisagra entre ellos. También se conocen otros acoplamientos químicos de fragmentos de anticuerpos.

El fragmento Fc comprende las partes carboxi-terminales de ambas cadenas H mantenidas juntas por disulfuros. Las funciones efectoras de los anticuerpos se determinan mediante las secuencias de la región Fc, cuya región también es la parte reconocida por receptores Fc (FcR) que se encuentran en determinados tipos de células.

"Fv" es el fragmento de anticuerpo mínimo que contiene un sitio de reconocimiento y de unión al antígeno completo. Este fragmento consiste en un dímero de un dominio de región variable de una cadena pesada y de una cadena ligera en estrecha asociación no covalente. Desde el plegamiento de estos dos dominios emanan seis bucles hipervariables (3 bucles de cada una de la cadena H y L) que contribuyen a los restos de aminoácidos de unión al antígeno y confieren al anticuerpo especificidad de unión al antígeno. Sin embargo, incluso un solo dominio variable (o la mitad de un Fv que comprende solo tres CDR específicas de un antígeno) tiene la capacidad de reconocer y unirse al antígeno, aunque a una afinidad inferior que el sitio de unión entero.

"Fv monocatenario", también abreviado como "sFv" o "scFv" son fragmentos de anticuerpo que comprenden los

dominios de anticuerpos de V_H y V_L conectados en una sola cadena polipeptídica. Preferentemente, el polipéptido sFv comprende además un enlazador polipeptídico entre los dominios V_H y V_L que permite al sFv formar la estructura deseada para la unión al antígeno. Para una revisión de los sFv, véase Pluckthun en "The Pharmacology of Monoclonal Antibodies", vol. 113, Rosenberg and Moore eds., Springer-Verlag, Nueva York, pág. 269-315 (1994); Borrebaeck 1995, *infra*.

El término "diacuerpos" se refiere a pequeños fragmentos de anticuerpos preparados mediante la construcción de fragmentos sFv (véase el párrafo anterior) con enlazadores cortos (aproximadamente 5-10 restos) entre los dominios V_H y V_L de modo que se consigue el apareamiento entre cadenas, pero no dentro de la cadena de los dominios V_H y V_L dando lugar a un fragmento bivalente, es decir, fragmento que tiene dos sitios de unión al antígeno. Los diacuerpos biespecíficos son heterodímeros de dos fragmentos sFv "cruzados" en los que los dominios V_H y V_L de los dos anticuerpos están presentes en diferentes cadenas polipeptídicas. Los diacuerpos se describen de manera más completa en, por ejemplo, los documentos EP 404.097; WO 93/11161; y Hollinger *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU.*, 90: 6444-6448 (1993).

Las formas "humanizadas" de anticuerpos no humanos (por ejemplo, de roedor) son anticuerpos quiméricos que contienen una secuencia mínima derivada del anticuerpo no humano. En su mayor parte, los anticuerpos humanizados son inmunoglobulinas humanas (anticuerpo receptor) en las que se reemplazan restos de una región hipervariable del receptor por restos de una región hipervariable de una especie no humana (anticuerpo donante) tal como un ratón, rata, conejo o primate no humano, que tienen la especificidad por el antígeno, afinidad y capacidad deseadas. En algunos casos, los restos de región marco conservada (FR) de la inmunoglobulina humana se reemplazan por restos no humanos correspondientes. Además, los anticuerpos humanizados pueden comprender restos que no se encuentran ni en el anticuerpo receptor ni en el anticuerpo donante. Estas modificaciones se realizan para perfeccionar más el rendimiento del anticuerpo. En general, el anticuerpo humanizado comprenderá esencialmente todos de al menos uno, y normalmente dos, dominios variables, en los que todos o esencialmente todos los bucles hipervariables corresponden a los de una inmunoglobulina no humana y todas o esencialmente todas las regiones FR son las de una secuencia de inmunoglobulina humana. El anticuerpo humanizado opcionalmente también comprenderá al menos una parte de una región constante de inmunoglobulina (Fc), normalmente la de una inmunoglobulina humana. Para más detalles, véase Iones *et al.*, *Nature*, 321: 522-525 (1986); Reichmann *et al.*, *Nature*, 332: 323-329 (1988); y Presta, *Curr. Op. Struct. Biol.*, 2:593-596 (1992).

Un "anticuerpo dependiente de la especie" es un anticuerpo que tiene una afinidad de unión más fuerte hacia un antígeno de una primera especie de mamífero que la que tiene por un homólogo de ese antígeno de una segunda especie de mamífero. Normalmente, el anticuerpo dependiente de la especie "se une específicamente" a un antígeno humano (es decir, tiene un valor de afinidad de unión (Kd) no superior a aproximadamente 1×10^{-7} M, preferentemente no superior a aproximadamente 1×10^{-8} y lo más preferentemente no superior a aproximadamente 1×10^{-9} M), pero tiene una afinidad de unión por un homólogo del antígeno de una segunda especie de mamífero no humano que es al menos aproximadamente 50 veces o al menos aproximadamente 500 veces o al menos aproximadamente 1.000 veces más débil que su afinidad de unión por el antígeno humano. El anticuerpo dependiente de la especie puede ser de cualquiera de los diversos tipos de anticuerpos definidos anteriormente, pero preferentemente es un anticuerpo humanizado o humano.

Un agente "que se une" a un antígeno de interés es aquel que se une al antígeno con una afinidad suficiente como para que un polipéptido, anticuerpo, antagonista o composición sea útil como agente de diagnóstico y/o terapéutico en la dirección de una célula o tejido que expresa el antígeno, y no reaccione significativamente de manera cruzada con otras proteínas (a menos que se especifique lo contrario). En dichas realizaciones, el grado de unión del agente a una proteína "no diana" será inferior al aproximadamente 10 % de la unión del polipéptido, anticuerpo, antagonista o composición a su proteína diana particular, que se puede determinar mediante análisis de clasificación de células activada por fluorescencia (FACS) o radioinmunoprecipitación (RIA). Con respecto a la unión de un agente polipeptídico a una molécula diana, la expresión "unión específica" o que "se une específicamente a" o que es "específico de" un determinado polipéptido o epítipo en un polipéptido diana particular significa la unión que es mensurablemente diferente de una interacción inespecífica. La unión específica se puede medir, por ejemplo, mediante la determinación de la unión de una molécula en comparación con la unión de una molécula de control, que, en general, es una molécula de estructura similar que no tiene actividad de unión. Por ejemplo, la unión específica se puede determinar mediante competición con una molécula de control que es similar a la diana, por ejemplo, un exceso de diana no marcada. En este caso, la unión específica se indica si la unión de la diana marcada a una sonda es inhibida competitivamente por un exceso de diana no marcada. La expresión "unión específica" o "se une específicamente a" o es "específico de" un determinado polipéptido o un epítipo en un polipéptido diana particular, tal como se usa en la presente memoria se puede inhibir, por ejemplo, mediante una molécula que tiene una Kd para la diana de al menos aproximadamente 10^{-4} M, como alternativa, al menos aproximadamente 10^{-5} M, como alternativa, al menos aproximadamente 10^{-6} M, como alternativa, al menos aproximadamente 10^{-7} M, como alternativa, al menos aproximadamente 10^{-8} M, como alternativa, al menos aproximadamente 10^{-9} M, como alternativa, al menos aproximadamente 10^{-10} M, como alternativa, al menos aproximadamente 10^{-11} M, como alternativa, al menos aproximadamente 10^{-12} M o superior. En una realización, la expresión "unión específica" se refiere a la unión en la que una molécula se une a un determinado polipéptido o epítipo en un polipéptido particular sin unirse esencialmente a ningún otro polipéptido o epítipo de polipéptido.

Las "funciones efectoras" del anticuerpo se refieren a las actividades biológicas atribuibles a la región Fc (una región Fc de secuencia nativa o región Fc variante de secuencia de aminoácidos) de un anticuerpo, y varían con el isotipo del anticuerpo. Los ejemplos de funciones efectoras de anticuerpo incluyen: unión con C1q y citotoxicidad dependiente del complemento; unión con el receptor de Fc; citotoxicidad mediada por células dependiente del anticuerpo (ADCC); fagocitosis; regulación negativa de los receptores de superficie celular (por ejemplo, receptor de linfocitos B); y activación de linfocitos B.

La "citotoxicidad mediada por células dependiente del anticuerpo" o "ADCC" se refiere a una forma de citotoxicidad en la que la Ig secretada unida a receptores de Fc (FcR) presentes en ciertas células citotóxicas (por ejemplo, linfocitos citolíticos naturales (NK), neutrófilos y macrófagos) permiten que estas células efectoras citotóxicas se unan específicamente a una célula diana portadora de antígeno y, posteriormente, destruyan la célula diana con citotoxinas. Los anticuerpos "arman" las células citotóxicas y son absolutamente necesarias para dicha destrucción. Las células primarias para mediar en la ADCC, los linfocitos NK, solo expresan FcγRIII mientras que los monocitos expresan FcγRI, FcγRII y FcγRIII. La expresión de FcR en células hematopoyéticas se resume en la Tabla 3, en la página 464 de Ravetch y Kinet, *Annu. Rev. Immunol.* 9: 457-92 (1991). Para evaluar la actividad de ADCC de una molécula de interés, puede realizarse un ensayo de ADCC *in vitro*, tal como el descrito en la patente de EE.UU. n.º 5.500.362 o 5.821.337. Las células efectoras útiles para dichos ensayos incluyen células mononucleares de sangre periférica (PBMC) y linfocitos citolíticos naturales (NK). Como alternativa, o además, se puede evaluar la actividad de ADCC de la molécula de interés *in vivo*, por ejemplo, en un modelo animal tal como el desvelado en Clynes *et al.* (EE.UU.) 95: 652-656 (1998).

La expresión "Receptor de Fc" o "FcR" describe un receptor que se une a la región Fc de un anticuerpo. El FcR preferido es FcR humano de secuencia nativa. Además, un FcR preferido es aquel que se une un anticuerpo IgG (un receptor gamma) e incluye receptores de las subclases FcγRI, FcγRII y FcγRIII, incluyendo variantes alélicas y formas cortadas y empalmadas de forma alternativa de estos receptores. Los receptores FcγRII incluyen FcγRIIA (un "receptor activador") y FcγRIIB (un "receptor inhibidor"), que tienen secuencias de aminoácidos similares que difieren principalmente en sus dominios citoplasmáticos. El receptor activador FcγRIIA contiene un motivo de activación basado en tirosina inmunorreceptor (ITAM) en su dominio citoplasmático. El receptor inhibidor FcγRIIB contiene un motivo de inhibición basado en tirosina inmunorreceptor (ITIM) en su dominio citoplasmático, (véase la revisión en M. Daëron, *Annu. Rev. Immunol.* 15: 203-234 (1997)). Los FcR se revisan en Ravetch y Kinet, *Annu. Rev. Immunol.* 9: 457-492 (1991); Capel *et al.*, "Immunomethods" 4: 25-34 (1994); y de Haas *et al.*, *J. Lab. Clin. Med.* 126: 330-41 (1995). Otros FcR, incluyendo los que se identifiquen en el futuro, están englobados por el término "FcR" en el presente documento. El término también incluye el receptor neonatal, FcRn, que es responsable de la transferencia de IgG maternas al feto (Guyer *et al.*, *J. Immunol.* 117:587 (1976) y Kim *et al.*, *J. Immunol.* 24: 249 (1994)).

Las "células efectoras humanas" son leucocitos que expresan uno o más FcR y realizan funciones efectoras. Preferentemente, las células expresan al menos FcγRIII y realizan la función efectora ADCC. Los ejemplos de leucocitos humanos que median en la ADCC incluyen células mononucleares de sangre periférica (PBMC), linfocitos citolíticos naturales (NK), monocitos, linfocitos T citotóxicos y neutrófilos; prefiriéndose la PBMC y los linfocitos NK. Las células efectoras se pueden aislar de una fuente nativa, por ejemplo, de la sangre.

La "citotoxicidad dependiente del complemento" o "CDC" se refiere a la lisis de una célula diana en presencia de complemento. La activación de la vía clásica del complemento se inicia mediante la unión del primer componente del sistema de complemento (C1q) con anticuerpos (de la subclase apropiada) que se unen con su antígeno afín. Para evaluar la activación del complemento, se puede realizar un ensayo de CDC, por ejemplo, como se describe en Gazzano-Santoro *et al.*, *J. Immunol. Methods* 202: 163 (1996).

Un sujeto que se vaya a tratar de acuerdo con la presente invención es un mamífero. El mamífero puede ser, por ejemplo, un primate (por ejemplo, un ser humano), un roedor (por ejemplo, una rata o un ratón), o un mamífero de otra especie. En cada uno de los métodos anteriores, el mamífero puede ser aquel que padezca un trastorno inmunológico.

Un mamífero "en necesidad" de tratamiento puede incluir, pero sin limitación, mamíferos que tienen trastornos inmunológicos, mamíferos que han tenido trastornos inmunológicos, mamíferos con síntomas de trastornos inmunológicos o mamíferos que tienen niveles elevados o reducidos de BAFF.

Una "cantidad eficaz" de un agente como se desvela en el presente documento es una cantidad suficiente para llevar a cabo un fin que se indique específicamente. Una "cantidad eficaz" puede determinarse empíricamente y mediante métodos conocidos relacionados con el fin indicado.

La expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a una cantidad de un agente terapéutico para su uso en la presente invención eficaz para "tratar" una enfermedad o un trastorno en un mamífero (también conocido como paciente). En un caso, la cantidad terapéuticamente eficaz puede ser una cantidad inhibidora del crecimiento o una cantidad citotóxica de uno o varios tipos de células. En las enfermedades autoinmunes, una cantidad terapéuticamente eficaz puede ser la cantidad que alivie uno o más síntomas de la enfermedad o la cantidad

necesaria para mantener una enfermedad en remisión. En el caso del cáncer, la cantidad terapéuticamente eficaz del fármaco es activa para cualquiera de los siguientes: la reducción del número de células cancerosas; la reducción del tamaño del tumor; la inhibición (es decir, ralentizar en cierto grado y preferentemente detener) de la infiltración de células cancerosas en órganos periféricos; la inhibición (es decir, ralentizar en cierto grado y preferentemente detener) de la metástasis tumoral; la inhibición, en cierta medida, del crecimiento del tumor; y/o el alivio en cierta medida de uno o más de los síntomas asociados con el cáncer. En la medida en que el fármaco pueda prevenir el crecimiento y/o matar las células cancerosas existentes, puede ser citostático y/o citotóxico. Un "tratamiento" o una "cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a un curso de la administración del agente terapéutico, curso que puede incluir varias dosificaciones repartidas en un período de tiempo para lograr un efecto deseado.

Una "cantidad inhibidora del crecimiento" de un agente terapéutico es una cantidad capaz de inhibir el crecimiento de una célula, especialmente de un tumor, por ejemplo, célula cancerosa, ya sea *in vitro* o *in vivo*. Una "cantidad inhibidora del crecimiento" de un polipéptido, anticuerpo, antagonista o composición usados en la presente invención se puede determinar empíricamente o, por ejemplo, mediante métodos conocidos en la técnica.

Una "cantidad citotóxica" de un agente terapéutico es una cantidad capaz de causar la destrucción de una célula, especialmente de un tumor, por ejemplo, de una célula cancerosa, ya sea *in vitro* o *in vivo*. Una "cantidad citotóxica" de agente terapéutico se puede determinar empíricamente o, por ejemplo, mediante métodos conocidos en la técnica.

El término "determinar" pretende incluir cualquier método de evaluación de las cantidades de una sustancia. En general, la técnica particular usada para la detección no es fundamental para la práctica de la invención.

Los ejemplos de controles comparativos incluyen, pero sin limitación, los sueros de los pacientes sanos normales, tejidos no malignos, y muestras previas y posteriores al tratamiento. En una realización, los niveles de polipéptido BAFF en sueros de mamíferos con trastornos inmunológicos se comparan con los sueros de mamíferos normales.

Producción de anticuerpos

(i) Anticuerpos policlonales

Es posible generar anticuerpos policlonales en animales mediante múltiples inyecciones subcutáneas (sc) o intraperitoneales (ip) del antígeno relevante y un adyuvante. Puede ser útil conjugar el antígeno relevante con una proteína que sea inmunogénica en la especie que se vaya a inmunizar, por ejemplo, hemocianina de lapa californiana, albúmina de suero, tiroglobulina bovina o inhibidor de tripsina de soja usando un agente bifuncional o derivatizante, por ejemplo, éster de maleimidobenzoil-sulfosuccinimida (conjugación a través de restos de cisteína), N-hidroxisuccinimida (a través de restos de lisina), glutaraldehído, anhídrido succínico, SOCl_2 o $\text{R}^1\text{N}=\text{C}=\text{NR}$, en la que R y R^1 son grupos alquilo diferentes.

Los animales se inmunizan contra el antígeno, conjugados inmunogénicos o derivados combinando, por ejemplo, 100 μg o 5 μg de la proteína o del conjugado (para conejos o ratones, respectivamente) con 3 volúmenes de adyuvante completo de Freund e inyectando la solución por vía intradérmica en múltiples sitios. Un mes después, se refuerzan los animales con 1/5 a 1/10 de la cantidad original de péptido o conjugado en adyuvante completo de Freund por inyección subcutánea en múltiples sitios. De siete a 14 días después, se toman muestras sanguíneas de los animales, y se ensaya el suero para determinar el título de los anticuerpos. Los animales se refuerzan hasta que el título se estabiliza. Preferentemente, el animal se refuerza con el conjugado del mismo antígeno, pero conjugado con una proteína diferente y/o mediante un reactivo de reticulación diferente. También se pueden preparar conjugados en cultivo celular recombinante como fusiones proteicas. Además, se usan convenientemente agentes de agregación tales como alumbre para potenciar la respuesta inmunitaria.

(ii) Anticuerpos monoclonales

Se obtienen anticuerpos monoclonales de una población de anticuerpos esencialmente homogéneos, es decir, los anticuerpos individuales que comprenden la población son idénticos a excepción de posibles mutaciones de origen natural que pueden estar presentes en cantidades menores. Por lo tanto, el modificador "monoclonal" indica como el carácter del anticuerpo que no está en una mezcla de anticuerpos diferenciados.

Por ejemplo, los anticuerpos monoclonales se pueden preparar usando el método de hibridoma descrito por primera vez por Kohler *et al.*, *Nature*, 256:495 (1975), o se pueden preparar mediante métodos de ADN recombinante (patente de EE.UU. n.º 4.816.567).

En el método de hibridoma, se inmuniza un ratón u otro animal hospedador apropiado, tal como un hámster, como se ha descrito anteriormente en el presente documento para generar linfocitos que produzcan o que sean capaces de producir anticuerpos que se unan específicamente a la proteína usada para la inmunización. Como alternativa, los linfocitos pueden inmunizarse *in vitro*. Los linfocitos se fusionan entonces con células de mieloma usando un agente de fusión adecuado, tal como polietilenglicol, para formar una célula de hibridoma (Goding, "Monoclonal

Antibodies: Principles and Practice", pág. 59-103 (Academic Press, 1986)).

- Las células de hibridoma preparadas de este modo se siembran y se cultivan en un medio de cultivo adecuado que puede contener una o más sustancias que inhiban el crecimiento o la supervivencia de las células de mieloma parentales, no fusionadas. Por ejemplo, si las células de mieloma parentales carecen de la enzima hipoxantina guanina fosforribosil transferasa (HGPRT o HPRT), el medio de cultivo para los hibridomas normalmente incluirá hipoxantina, aminopterina y timidina (medio HAT), cuyas sustancias previenen el crecimiento de células deficientes en HGPRT.
- En una realización, las células de mieloma son las que se fusionan eficazmente, apoyan la producción a alto nivel estable de anticuerpo por las células productoras de anticuerpo seleccionadas, y son sensibles a un medio tal como medio HAT. Entre estas, las líneas celulares de mieloma preferidas son líneas de mieloma murino, tales como las derivadas de tumores de ratón MOPC-21 y MPC-11 disponibles en el Centro de Distribución de Células del Instituto Salk, San Diego, California, EE.UU., y las células SP-2 o X63-Ag8-653 disponibles en la Colección Americana de Cultivos Tipo, Rockville, Maryland, EE.UU. También se han descrito líneas celulares de mieloma humano y heteromieloma de ratón-humano para la producción de anticuerpos monoclonales humanos (Kozbor, *J. Immunol.*, 133:3001 (1984); Brodeur *et al.*, "Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications", pág. 51-63 (Marcel Dekker, Inc., Nueva York, 1987)).
- El medio de cultivo en el que se cultivan las células de hibridoma se ensaya para determinar la producción de anticuerpos monoclonales dirigidos contra el antígeno. En una realización, la especificidad de unión de los anticuerpos monoclonales producidos por células de hibridoma se determina mediante inmunoprecipitación o mediante ensayo de unión *in vitro*, tal como radioinmunoensayo (RIA) o ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA).
- La afinidad de unión del anticuerpo monoclonal se puede determinar, por ejemplo, mediante el análisis de Scatchard de Munson *et al.*, *Anal. Biochem.*, 107:220 (1980).
- Tras la identificación de las células de hibridoma que producen anticuerpos de la especificidad, afinidad y/o actividad deseadas, los clones pueden subclonarse mediante procedimientos de dilución limitante y cultivarse mediante métodos convencionales (Goding, "Monoclonal Antibodies: Principles and Practice", pág. 59-103 (Academic Press, 1986)). Los medios de cultivo adecuados para este fin incluyen, por ejemplo, medio D-MEM o RPMI-1640. Además, las células de hibridoma pueden cultivarse *in vivo* como tumores ascíticos en un animal.
- Los anticuerpos monoclonales secretados por los subclones se separan adecuadamente del medio de cultivo, líquido ascítico o suero mediante procedimientos de purificación de inmunoglobulina convencionales tales como, por ejemplo, proteína A-Sefarosa, cromatografía de hidroxilapatita, electroforesis en gel, diálisis o cromatografía de afinidad.
- El ADN que codifica los anticuerpos monoclonales se aísla fácilmente y se secuencía usando procedimientos convencionales (por ejemplo, usando sondas oligonucleotídicas que son capaces de unirse específicamente con genes que codifican las cadenas pesada y ligera de anticuerpos murinos). Las células de hibridoma sirven de fuente preferida de dicho ADN. Una vez aislado, el ADN puede colocarse en vectores de expresión, que después se transfectan a células hospedadoras tales como células de *E. coli*, células COS de simio, células de Ovario de Hámster Chino (CHO) o células de mieloma que no producen de otro modo proteína inmunoglobulina, para obtener la síntesis de anticuerpos monoclonales en las células hospedadoras recombinantes. Los artículos de revisión sobre la expresión recombinante en bacterias de ADN que codifica el anticuerpo incluyen Skerra *et al.*, *Curr. Opinion in Immunol.*, 5: 256-262 (1993) y Plückthun, *Immunol. Revs.*, 130: 151-188 (1992).
- En una realización adicional, se pueden aislar anticuerpos o fragmentos de anticuerpo de bibliotecas de fagos de anticuerpos generadas usando las técnicas descritas, por ejemplo, en McCafferty *et al.*, *Nature*, 348:552-554 (1990). Clackson *et al.*, *Nature*, 352:624-628 (1991) y Marks *et al.*, *J. Mol. Biol.*, 222:581-597 (1991) describen el aislamiento de anticuerpos murinos y humanos, respectivamente, usando bibliotecas de fagos. Las publicaciones posteriores describen la producción de anticuerpos humanos de alta afinidad (intervalo de nM) mediante intercambio de cadenas (Marks *et al.*, *Bio/Technology*, 10: 779-783 (1992)), así como infección combinatoria y recombinación *in vivo* como una estrategia para construir bibliotecas de fagos muy grandes (Waterhouse *et al.*, *Nuc. Acids. Res.*, 21: 2265-2266 (1993)). Por lo tanto, estas técnicas son alternativas viables a las técnicas de hibridoma de anticuerpo monoclonal tradicionales para el aislamiento de anticuerpos monoclonales.
- El ADN se puede modificar, por ejemplo, sustituyendo la secuencia codificante de dominios constantes de cadena pesada y ligera humanos en lugar de las secuencias murinas homólogas (patente de EE.UU. n.º 4.816.567; Morrison *et al.*, *Proc. Natl Acad. Sci. EE.UU.*, 81:6851 (1984)), o uniendo covalentemente a la secuencia codificante de inmunoglobulina toda o una parte de la secuencia codificante para un polipéptido no de inmunoglobulina.
- Por lo general, dichos polipéptidos no de inmunoglobulina sustituyen a los dominios constantes de un anticuerpo, o sustituyen a los dominios variables de un sitio de combinación de antígeno de un anticuerpo para crear un

anticuerpo bivalente quimérico que comprende un sitio de combinación de antígeno que tiene especificidad por un antígeno y otro sitio de combinación de antígeno que tiene especificidad por un antígeno diferente.

(iii) Anticuerpos humanizados

Se han descrito ejemplos de métodos para humanizar anticuerpos no humanos. En general, un anticuerpo humanizado tiene uno o más restos de aminoácidos en el mismo procedentes de una fuente que no es humana. Estos restos de aminoácidos no humanos se suelen denominar restos "importados", que normalmente se toman de un dominio variable "importado" (por ejemplo, Iones *et al.*, *Nature*, 321:522-525 (1986); Riechmann *et al.*, *Nature*, 332:323-327 (1988); Verhoeyen *et al.*, *Science*, 239:1534-1536 (1988)). Habitualmente, los anticuerpos humanizados son anticuerpos humanos en los que algunos restos de región hipervariable y posiblemente algunos restos de FR están sustituidos con restos de sitios análogos en anticuerpos de roedor.

La elección de dominios variables humanos, tanto ligeros como pesados, para su uso en la preparación de los anticuerpos humanizados es muy importante para reducir la antigenicidad. De acuerdo con el método denominado de "mejor ajuste", se explora la secuencia del dominio variable de un anticuerpo de roedor frente a la biblioteca completa de secuencias de dominio variable humanas. La secuencia humana que está más cerca de la del roedor se acepta después como la región marco conservada humana (FR) para el anticuerpo humanizado (Sims *et al.*, *J. Immunol.*, 151: 2296 (1993); Chothia *et al.*, *J. Mol. Biol.*, 196:901 (1987)). Otro método usa una región marco conservada particular derivada de la secuencia consenso de todos los anticuerpos humanos de un subgrupo particular de cadenas ligeras o pesadas. Se puede usar el mismo marco conservado para varios anticuerpos humanizados diferentes (Carter *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU.*, 89: 4285 (1992); Presta *et al.*, *J. Immunol.*, 151: 2623 (1993)).

Suele ser importante que los anticuerpos se humanicen con retención de alta afinidad hacia el antígeno y otras propiedades biológicas favorables. Para conseguir este objetivo, de acuerdo con un método preferido, se preparan anticuerpos humanizados mediante un proceso de análisis de las secuencias parentales y diversos productos humanizados conceptuales usando modelos tridimensionales de las secuencias parentales y humanizadas. Normalmente, se dispone de modelos de inmunoglobulina tridimensionales, conocidos por los expertos en la materia. Se dispone de programas informáticos que ilustran y presentan estructuras conformacionales tridimensionales probables de secuencias de inmunoglobulina candidatas seleccionadas. El examen de estas presentaciones permite el análisis del papel probable de los restos en el funcionamiento de la secuencia de inmunoglobulina candidata, es decir, el análisis de restos que influyen en la capacidad de la inmunoglobulina candidata para unirse con su antígeno. De esta manera, se pueden seleccionar y combinar restos de FR de las secuencias receptoras e importadas, de modo que se obtenga la característica de anticuerpo deseada, tal como el aumento de la afinidad por el/los antígeno/s diana. En general, los restos de región hipervariable participan directamente y más esencialmente en la modificación de la unión al antígeno.

(iv) Anticuerpos humanos

Como alternativa a la humanización, se pueden generar anticuerpos humanos. Por ejemplo, es posible producir animales transgénicos (por ejemplo, ratones) que son capaces, tras su inmunización, de producir un repertorio completo de anticuerpos humanos en ausencia de producción de inmunoglobulina endógena. Por ejemplo, se ha descrito que la eliminación homocigótica del gen de la región de unión de cadena pesada del anticuerpo (J_H) en ratones mutantes quiméricos y de línea germinal genera la inhibición completa de la producción de anticuerpos endógenos. La transferencia de la serie de genes de inmunoglobulina de línea germinal humana en dichos ratones mutantes de línea germinal dará lugar a la producción de anticuerpos humanos tras su exposición al antígeno. Véase, por ejemplo, Jakobovits *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU.*, 90: 2551 (1993); Jakobovits *et al.*, *Nature*, 362: 255-258 (1993); Bruggermann *et al.*, *Year in Immuno.*, 7:33 (1993); y patentes de EE.UU. n.º 5.591.669, 5.589.369 y 5.545.807.

Como alternativa, se puede usar tecnología de presentación de fagos (McCafferty *et al.*, *Nature* 348: 552-553 (1990)) para producir anticuerpos humanos y fragmentos de anticuerpo *in vitro*, a partir de repertorios de genes de dominio variable (V) de inmunoglobulina de donantes no inmunizados. En una realización, se clonan genes de dominio V de anticuerpo en fase en un gen de proteína de recubrimiento mayor o menor de un bacteriófago filamentoso, tal como M13 o fd, y se presentan como fragmentos de anticuerpos funcionales en la superficie de la partícula de fago. Dado que la partícula filamentosa contiene una copia de ADN monocatenaria del genoma del fago, las selecciones basadas en las propiedades funcionales del anticuerpo también dan lugar a la selección del gen que codifica el anticuerpo que muestra esas propiedades. Así pues, el fago imita algunas de las propiedades del linfocito B. La presentación en fagos puede realizarse en varios formatos; para su revisión véase, por ejemplo, Johnson, Kevin S. y Chiswell, David J., *Current Opinion in Structural Biology* 3:564-571 (1993). Se pueden usar varias fuentes de segmentos de genes V para la presentación en fagos. Clackson *et al.*, *Nature*, 352: 624-628 (1991) aislaron una serie diversa de anticuerpos anti-oxazolona de una biblioteca combinatoria aleatoria pequeña de genes V derivados de los bazos de ratones inmunizados. Se puede construir un repertorio de genes V de donantes humanos no inmunizados y se pueden aislar anticuerpos para una serie diversa de antígenos (incluyendo auto-antígenos) esencialmente siguiendo las técnicas descritas en Marks *et al.*, *J. Mol. Biol.* 222: 581-597 (1991), o Griffith *et al.*,

EMBO J. 12: 725-734 (1993). Véanse, también, las patentes de EE.UU. n.º 5.565.332 y 5.573.905.

También se pueden generar anticuerpos humanos por linfocitos B activados *in vitro* (véanse las patentes de EE.UU. n.º 5.567.610 y 5.229.275).

5

(v) Fragmentos de anticuerpo

Se han desarrollado diversas técnicas para la producción de fragmentos de anticuerpo. Tradicionalmente, estos fragmentos derivaban mediante digestión proteolítica de anticuerpos intactos (véase, por ejemplo, Morimoto *et al.*, *Journal of Biochemical and Biophysical Methods* 24: 107-117 (1992) y Brennan *et al.*, *Science*, 229: 81 (1985)). Sin embargo, estos fragmentos se pueden producir ahora directamente mediante células hospedadoras recombinantes. Por ejemplo, los fragmentos de anticuerpo se pueden aislar de las bibliotecas de fagos de anticuerpos analizadas anteriormente. Como alternativa, se pueden recuperar directamente fragmentos Fab'-SH de *E. coli* y acoplarse químicamente para formar fragmentos F(ab')₂ (Carter *et al.*, *Bio/Technology* 10: 163-167 (1992)). De acuerdo con otra metodología, se pueden aislar fragmentos F(ab')₂ directamente de cultivo de células hospedadoras recombinantes. Hay otras técnicas para la producción de fragmentos de anticuerpos que resultarán evidentes para el experto en la materia. En otras realizaciones, el anticuerpo de elección es un fragmento Fv monocatenario (scFv). Véase el documento WO 93/16185; la patente de EE.UU. n.º 5.571.894; y la patente de EE.UU. n.º 5.587.458. El fragmento de anticuerpo también puede ser un "anticuerpo lineal", por ejemplo, como se describe en la patente de EE.UU. n.º 5.641.870, por ejemplo. Dichos fragmentos lineales pueden ser monoespecíficos o biespecíficos.

(vi) Anticuerpos biespecíficos

Los anticuerpos biespecíficos son anticuerpos que tienen especificidades de unión hacia al menos dos epítopos diferentes. Los anticuerpos biespecíficos ilustrativos se pueden unir con dos epítopos diferentes del marcador de superficie de linfocitos B. Otros de dichos anticuerpos se pueden unir con un primer marcador de linfocitos B y además unirse con un segundo marcador de superficie de linfocitos B. Como alternativa, se puede combinar un brazo de unión al marcador anti-linfocitos B con un brazo que se une a una molécula desencadenante en un leucocito tal como una molécula receptora de linfocitos T (por ejemplo, CD2 o CD3) o receptores de Fc para IgG (FcγR), tales como FcγRI (CD64), FcγRII (CD32) y FcγRIII (CD16) para centrar los mecanismos de defensa celular en los linfocitos B. Los anticuerpos biespecíficos también se pueden usar para localizar agentes citotóxicos en el linfocito B. Estos anticuerpos poseen un brazo de unión a marcadores de linfocitos B y un brazo que se une al agente citotóxico (por ejemplo, saporina, anti-interferón, alcaloide de la vinca, cadena de ricina A, metotrexato o hapteno de isótopos radiactivos). Se pueden preparar anticuerpos biespecíficos como anticuerpos de longitud completa o fragmentos de anticuerpo (por ejemplo, anticuerpos biespecíficos F(ab')₂).

La producción tradicional de anticuerpos biespecíficos de longitud completa se basa en la coexpresión de dos pares de cadena ligera-cadena pesada de inmunoglobulina, en los que las dos cadenas tienen diferentes especificidades (Millstein *et al.*, *Nature*, 305: 537-539 (1983)). Debido a la clasificación aleatoria de cadenas pesadas y ligeras de inmunoglobulina, estos hibridomas (cuadromas) producen una mezcla potencial de 10 moléculas de anticuerpos diferentes, de las que solo una tiene la estructura biespecífica correcta. La purificación de la molécula correcta, que se realiza habitualmente mediante etapas de cromatografía de afinidad, es bastante incómoda, y los rendimientos del producto son bajos. Se desvelan procedimientos similares en el documento WO 93/08829, y en Traunecker *et al.*, *EMBO J.*, 10:3655-3659 (1991).

De acuerdo con una metodología diferente, se fusionan dominios variables de anticuerpo con las especificidades de unión deseadas (sitios de combinación de anticuerpo-antígeno) con secuencias de dominio constante de inmunoglobulina. La fusión puede ser con un dominio constante de cadena pesada de inmunoglobulina, que comprende al menos parte de las regiones bisagra, CH2 y CH3. De acuerdo con una realización, la primera región constante de cadena pesada (CH1) contiene el sitio necesario para que la unión de cadena ligera esté presente en al menos una de las fusiones: Los ADN que codifican las fusiones de cadena pesada de inmunoglobulina y, si se desea, la cadena ligera de inmunoglobulina, se insertan en vectores de expresión separados, y se cotransfectan en un organismo hospedador adecuado. Esto proporciona gran flexibilidad en el ajuste de las proporciones mutuas de los tres fragmentos polipeptídicos en realizaciones en las que relaciones desiguales de las tres cadenas polipeptídicas usadas en la construcción proporcionan los rendimientos óptimos. Es posible, sin embargo, insertar las secuencias codificantes para dos o las tres cadenas polipeptídicas en un vector de expresión cuando la expresión de al menos dos cadenas polipeptídicas en relaciones iguales da como resultado altos rendimientos o cuando las relaciones no son de importancia particular.

En una realización de la presente metodología, los anticuerpos biespecíficos se componen de una cadena pesada de inmunoglobulina híbrida con una primera especificidad de unión en un brazo, y un par de cadena ligera-cadena pesada de inmunoglobulina híbrido (que proporciona una segunda especificidad de unión) en el otro brazo. Se ha descubierto que esta estructura asimétrica facilita la separación del compuesto biespecífico deseado de combinaciones de cadenas de inmunoglobulina no deseadas, ya que la presencia de una cadena ligera de inmunoglobulina en solo la mitad de la molécula biespecífica proporciona un modo fácil de separación. Dicha metodología se desvela en el documento WO 94/04690. Para más detalles de la generación de anticuerpos

biespecíficos, véase, por ejemplo, Suresh *et al.*, *Methods in Enzymology*, 121: 210 (1986)

De acuerdo con otra metodología descrita en la patente de EE.UU. n.º 5.731.168, se puede modificar la superficie de contacto entre un par de moléculas de anticuerpo técnicamente para aumentar al máximo el porcentaje de heterodímeros que se recuperan del cultivo de células recombinantes. La superficie de contacto puede comprender al menos una parte del dominio C_H3 de un dominio constante de anticuerpo. En este método, se reemplazan una o más cadenas laterales de aminoácidos pequeñas de la superficie de contacto de la primera molécula de anticuerpo con cadenas laterales mayores (por ejemplo, tirosina o triptófano). Se crean "cavidades" compensatorias de tamaño idéntico o similar a la/s cadena/s lateral/es grande/s en la superficie de contacto de la segunda molécula de anticuerpo reemplazando cadenas laterales de aminoácidos grandes con otras más pequeñas (por ejemplo, alanina o treonina). Esto proporciona un mecanismo para aumentar el rendimiento del heterodímero sobre otros productos finales no deseados tales como homodímeros.

Los anticuerpos biespecíficos incluyen anticuerpos reticulados o "heteroconjugados". Por ejemplo, uno de los anticuerpos del heteroconjugado puede acoplarse con avidina, el otro con biotina. Se ha propuesto que dichos anticuerpos, por ejemplo, dirigen células del sistema inmunitario a células no deseadas (patente de EE.UU. n.º 4.676.980) y para el tratamiento de la infección por VIH (documentos WO 91/00360, WO 92/200373 y EP 03089). Se pueden preparar anticuerpos heteroconjugados usando cualquier método de reticulación conveniente. Se conocen bien en la técnica agentes de reticulación adecuados, y se desvelan en la patente de EE.UU. n.º 4.676.980, junto con varias técnicas de reticulación.

También se han descrito técnicas de generación de anticuerpos biespecíficos a partir de fragmentos de anticuerpo en la bibliografía. Por ejemplo, se pueden preparar anticuerpos biespecíficos usando enlace químico. Brennan *et al.*, *Science*, 229:81 (1985) describe un procedimiento en el que se escinden de forma proteolítica anticuerpos intactos para generar fragmentos F(ab')₂. Estos fragmentos se reducen en presencia del agente formador de complejo con ditiol arsenita sódica para estabilizar ditioles vecinos y evitar la formación de disulfuro intermolecular. Los fragmentos Fab' generados se convierten después en derivados de tionitrobenzoato (TNB). Uno de los derivados de Fab'-TNB se vuelve a convertir luego en el Fab'-tiol mediante la reducción con mercaptoetilamina y se mezcla con una cantidad equimolar del otro derivado de Fab'-TNB para formar el anticuerpo biespecífico. Los anticuerpos biespecíficos producidos se pueden usar como agentes para la inmovilización selectiva de enzimas.

El reciente progreso ha facilitado la recuperación directa de fragmentos Fab'-SH de *E. coli*, que se pueden acoplar químicamente para formar anticuerpos biespecíficos. Shalaby *et al.*, *J. Exp. Med.*, 175: 217-225 (1992) describen la producción de una molécula F(ab')₂ de anticuerpo biespecífico completamente humanizada. Cada fragmento Fab' se secretó por separado de *E. coli* y se sometió a acoplamiento químico dirigido *in vitro* para formar el anticuerpo biespecífico. El anticuerpo biespecífico formado de esta manera fue capaz de unirse a células que sobreexpresaban el receptor de ErbB2 y linfocitos T humanos normales, así como de desencadenar la actividad lítica de linfocitos citotóxicos humanos contra dianas de tumor de mama humano.

También se han descrito diversas técnicas de preparación y aislamiento de fragmentos de anticuerpo biespecíficos directamente a partir de cultivo celular recombinante. Por ejemplo, se han producido anticuerpos biespecíficos usando cremalleras de leucina. Kostelny *et al.*, *J. Immunol.*, 148(5): 1547-1553 (1992). Se unieron los péptidos de cremalleras de leucina de las proteínas Fos y Jun con las partes Fab' de dos anticuerpos diferentes por fusión génica. Se redujeron los homodímeros de anticuerpo en la región bisagra para formar monómeros y después se volvieron a oxidar para formar los heterodímeros de anticuerpo. Este método también se puede utilizar para la producción de homodímeros de anticuerpo. La tecnología de "diacuerpo" descrita en Hollinger *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU.*, 90: 6444-6448 (1993) ha proporcionado un mecanismo alternativo para preparar fragmentos de anticuerpo biespecíficos. Los fragmentos comprenden un dominio variable de cadena pesada (V_H) conectado con un dominio variable de cadena ligera (V_L) por un enlazador que es demasiado corto para permitir el emparejamiento entre los dos dominios en la misma cadena. Por consiguiente, se obliga a los dominios V_H y V_L de un fragmento a emparejarse con los dominios V_L y V_H complementarios de otro fragmento, formando de esta manera dos sitios de unión al antígeno. También se ha indicado otra estrategia para preparar fragmentos de anticuerpo biespecíficos mediante el uso de dímeros de Fv monocatenario (sFv). Véase Gruber *et al.*, *J. Immunol.*, 152:5368 (1994).

Se contemplan anticuerpos con más de dos valencias. Por ejemplo, se pueden preparar anticuerpos trispecíficos. Tutt *et al.* *J. Immunol.* 147: 60 (1991).

Se contemplan una o varias modificaciones de secuencias de aminoácidos de antagonistas y anticuerpos proteicos o peptídicos descritos en el presente documento. Por ejemplo, puede ser deseable mejorar la afinidad de unión y/u otras propiedades biológicas de la molécula original (por ejemplo, agente de agotamiento de linfocitos B, etc.). Se preparan variantes de secuencias de aminoácidos del antagonista introduciendo cambios de nucleótidos apropiados en el ácido nucleico antagonista, o mediante síntesis peptídica. Dichas modificaciones incluyen, por ejemplo, eliminaciones de y/o inserciones en y/o sustituciones de, restos dentro de las secuencias de aminoácidos del antagonista. Se realiza cualquier combinación de eliminación, inserción y sustitución para llegar a la construcción final, siempre que la construcción final posea las características deseadas. Los cambios de aminoácidos también pueden modificar procesos posteriores a la traducción del antagonista, tales como cambiar el número o la posición

de sitios de glicosilación.

Un método útil de identificación de ciertos restos o regiones que son localizaciones preferidas para la mutagénesis se denomina "mutagénesis de exploración con alanina" según lo descrito por Cunningham y Wells *Science*, 244: 1081-1085 (1989). En este caso, se identifica un resto o grupo de restos diana (por ejemplo, restos con carga tales como arg, asp, his, lys y glu) y se reemplazan por un aminoácido con carga negativa o neutro (lo más frecuentemente preferentemente alanina o polialanina) para afectar a la interacción de los aminoácidos con el antígeno. Las ubicaciones de los aminoácidos que demuestren sensibilidad funcional a las sustituciones se perfeccionan después introduciendo variantes adicionales u otras en, o para, los sitios de sustitución. Por lo tanto, aunque el sitio para introducir una variación de secuencias de aminoácidos está predeterminado, no es necesario que la naturaleza de la mutación en sí esté predeterminada. Por ejemplo, para analizar el rendimiento de una mutación en un sitio dado, se realiza mutagénesis de exploración con ala o aleatoria en el codón o región diana, y las variantes expresadas se exploran en busca de la actividad deseada.

Las inserciones de secuencias de aminoácidos incluyen fusiones amino y/o carboxilo terminales que varían de longitud de un resto a polipéptidos que contienen cien o más restos, así como inserciones intrasecuencia de uno o varios restos de aminoácidos. Los ejemplos de inserciones terminales incluyen polipéptidos con un resto metionilo N-terminal o polipéptidos fusionados con un polipéptido citotóxico. Otras variantes de inserción incluyen la fusión de una enzima o un polipéptido que aumenta la semivida en suero de una molécula al extremo N o C terminal de la molécula original.

Otro tipo de variante es una variante de sustitución de aminoácidos. Estas variantes tienen al menos un resto de aminoácido en la molécula original reemplazado por un resto diferente. Los sitios de mayor interés para la mutagénesis de sustitución de antagonistas de anticuerpos incluyen las regiones hipervariables, pero también se contemplan alteraciones de FR. Se muestran sustituciones conservativas en la Tabla 1 bajo el encabezamiento de "sustituciones preferidas". Si dichas sustituciones producen un cambio en la actividad biológica, entonces pueden introducirse más cambios sustanciales, denominados "sustituciones ilustrativas" en la Tabla 1, o como se describe además más adelante en referencia a las clases de aminoácidos, y explorarse los productos.

Tabla 1

Resto original	Sustituciones ilustrativas	Sustituciones preferidas
Ala (A)	Val; Leu; Ile	Val
Arg (R)	Lys; Gln; Asn	Lys
Asn(N)	Gln; His; Asp; Lys; Arg	Gln
Asp (D)	Glu; Asn	Glu
Cys (C)	Ser; Ala	Ser
Gln (Q)	Asn; Glu	Asn
Glu (E)	Asp; Gln	Asp
Gly (G)	Ala	Ala
His (H)	Asn; Gln; Lys; Arg	Arg
Ile (I)	Leu; Val; Met; Ala; Phe; Norleucina	Leu
Leu (L)	Norleucina; Ile; Val; Met; Ala; Phe	Ile
Lys (K)	Arg; Gln; Asn	Arg
Met (M)	Leu; Phe; Ile	Leu
Phe (F)	Trp; Leu; Val; Ile; Ala; Tyr	Tyr
Pro (P)	Ala	Ala
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Val; Ser	Ser
Trp (W)	Tyr; Phe	Tyr

Tyr (Y)	Trp; Phe; Thr; Ser	Phe
Val (V)	Ile; Leu; Met; Phe;	Leu
	Ala; Norleucina	

Se realizan modificaciones sustanciales en las propiedades biológicas de la molécula original seleccionando sustituciones que difieren significativamente en su efecto sobre el mantenimiento de (a) la estructura de la cadena principal polipeptídica en la zona de la sustitución, por ejemplo, como una configuración en lámina o helicoidal; (b) la carga o hidrofobicidad de la molécula en el sitio diana; o (c) el volumen de la cadena lateral. Los restos de origen natural se dividen en grupos basándose en las propiedades comunes de cadena lateral:

- (1) hidrófobos: norleucina, met, ala, val, leu, ile;
- (2) hidrófilos neutros: cys, ser, thr;
- (3) ácidos: asp, glu;
- (4) básicos: asn, gln, his, lys, arg;
- (5) restos que influyen en la orientación de la cadena: gly, pro; y
- (6) aromáticos: trp, tyr, phe.

Las sustituciones no conservativas implicarán intercambiar un miembro de una de estas clases por otra clase.

Cualquier resto de cisteína no implicado en el mantenimiento de la configuración apropiada de la molécula original también puede sustituirse, en general, con serina, para mejorar la estabilidad oxidativa de la molécula y evitar la reticulación aberrante. Por el contrario, se pueden añadir uno o varios enlaces de cisteína a la molécula original para mejorar su estabilidad (en particular, cuando la molécula original es un fragmento de anticuerpo tal como un fragmento Fv).

Un tipo particularmente preferido de variante de sustitución implica sustituir uno o más restos de región hipervariable de un anticuerpo parental. En general, la/s variante/s resultante/s seleccionada/s para el desarrollo adicional tendrán propiedades biológicas mejoradas con respecto al anticuerpo parental del que se generan. Un modo conveniente para generar dichas variantes de sustitución es la maduración de afinidad usando presentación en fagos. En resumen, se mutan varios sitios de región hipervariable (por ejemplo, 6-7 sitios) para generar todas las posibles sustituciones de amino en cada sitio. Las variantes de anticuerpo generadas de este modo se presentan de una manera monovalente a partir de partículas de fagos filamentosos como fusiones con el producto del gen III de M13 empaquetado dentro de cada partícula. A continuación, se exploran las variantes presentadas en fagos en busca de su actividad biológica (por ejemplo, afinidad de unión) como se desvela en el presente documento. Para identificar sitios de región hipervariable candidatos para la modificación, se puede realizar la mutagénesis de exploración con alanina para identificar los restos de región hipervariable que contribuyen significativamente a la unión al antígeno. Como alternativa, o además, puede ser beneficioso analizar una estructura cristalina del complejo de antígeno-anticuerpo para identificar puntos de contacto entre el anticuerpo y el antígeno. Dichos restos de contacto y restos vecinos son candidatos para la sustitución de acuerdo con las técnicas elaboradas en el presente documento. Una vez que se generan dichas variantes, se somete el panel de variantes a exploración como se ha descrito en el presente documento, y se pueden seleccionar anticuerpos con propiedades superiores en uno o más ensayos relevantes para un desarrollo posterior.

Otro tipo de variante de aminoácido altera el patrón de glicosilación original del antagonista. Por alterar se entiende eliminar una o más fracciones de hidrato de carbono que se encuentran en la molécula original y/o añadir uno o más sitios de glicosilación que no estén presentes en la molécula original. La glicosilación de polipéptidos normalmente está ligada a N o ligada a O. Ligada a N se refiere a la unión de la fracción de hidrato de carbono con la cadena lateral de un resto de asparagina. Las secuencias tripeptídicas asparagina-X-serina y asparagina-X-treonina, en las que X es cualquier aminoácido a excepción de prolina, son las secuencias de reconocimiento para la unión enzimática del resto de hidrato de carbono con la cadena lateral de asparagina. Así pues, la presencia de cualquiera de estas secuencias tripeptídicas en un polipéptido crea un sitio de glicosilación potencial. La glicosilación ligada a O se refiere a la unión de uno de los azúcares N-acetilgalactosamina, galactosa o xilosa con un hidroxiaminoácido, más comúnmente, serina o treonina, aunque también se pueden usar 5-hidroxiprolina o 5-hidroxilisina.

La adición de sitios de glicosilación a la molécula original se realiza convenientemente alterando la secuencia de aminoácidos de modo que contenga una o más de las secuencias tripeptídicas anteriormente descritas (para sitios de glicosilación ligados a N). La alteración también se puede realizar mediante la adición de o la sustitución por uno o más restos de serina o treonina a la secuencia de la molécula original (para sitios de glicosilación ligados a O).

Se preparan moléculas de ácido nucleico que codifican variantes de secuencia de aminoácidos de la molécula original mediante diversos métodos conocidos en la técnica. Estos métodos incluyen, pero sin limitación, aislamiento de una fuente natural (en el caso de variantes de secuencia de aminoácidos de origen natural) o preparación mediante mutagénesis mediada por oligonucleótidos (o dirigida), mutagénesis por PCR y mutagénesis por casete de una versión variante o no variante previamente preparada de la molécula original.

Puede ser deseable modificar el antagonista para su uso en la invención con respecto a la función efectora, por ejemplo, para potenciar la citotoxicidad mediada por células dependiente del antígeno (ADCC) y/o la citotoxicidad dependiente del complemento (CDC) de la molécula original. Esto se puede conseguir introduciendo una o más sustituciones de aminoácidos en una región Fc de un anticuerpo. Como alternativa o además, pueden introducirse uno o varios restos de cisteína en la región Fc, permitiendo de esta manera la formación de enlaces disulfuro intercatenarios en esta región. El anticuerpo homodimérico generado de esta manera puede tener una mejor capacidad de internacionalización y/o mayor destrucción celular mediada por el complemento y citotoxicidad celular dependiente de anticuerpo (ADCC). Véase, Caron *et al.*, *J. Exp Med.* 176: 1191-1195 (1992) y Shopes, B. J. *Immunol.* 148: 2918-2922 (1992). También se pueden preparar anticuerpos homodiméricos con actividad antitumoral potenciada usando agentes de reticulación heterobifuncionales según lo descrito en Wolff *et al.* *Cancer Research* 53: 2560-2565 (1993). Como alternativa, se puede diseñar por ingeniería genética un anticuerpo que tenga regiones Fc dobles y pueda tener, por tanto, capacidades de lisis del complemento y de ADCC potenciadas. Véase Stevenson *et al.* *Anti-Cancer Drug Design* 3: 219-230 (1989).

Para aumentar la semivida en suero de la molécula original, se puede incorporar un epítipo de unión al receptor de recuperación en la molécula original (en especial, un fragmento de anticuerpo) según lo descrito en la patente de EE.UU. n.º 5.739.277, por ejemplo. Como se usa en el presente documento, la expresión "epítipo de unión al receptor de recuperación" se refiere a un epítipo de la región Fc de una molécula de IgG (por ejemplo, IgG₁, IgG₂, IgG₃ o IgG₄) que es responsable de aumentar la semivida en suero *in vivo* de la molécula de IgG.

Dosificación

Dependiendo de la indicación que se vaya a tratar y de factores relevantes para la dosificación con los que un médico experto en el campo estaría familiarizado, los agentes terapéuticos para su uso en la invención normalmente se administrarán a una dosis que es eficaz para el tratamiento de dicha indicación a la vez que se reducen al mínimo la toxicidad y los efectos secundarios. Según sea necesario, las sesiones de tratamiento pueden ser intermitentes. Por ejemplo, los pacientes pueden recibir dosis semanales, seguidas por el cese durante un período de tiempo, pudiéndose luego reanudar el tratamiento. El tratamiento para las enfermedades oncológicas con agentes de agotamiento de linfocitos B se puede combinar con quimioterapia, tal como con CHOP o fludarabina y citoxano. El tratamiento de enfermedades autoinmunes con agentes de agotamiento se puede combinar con agentes terapéuticos útiles en dichas enfermedades, por ejemplo, metotrexato.

En un ejemplo, en el tratamiento de pacientes que sufren neoplasia de linfocitos B, tales como linfoma no Hodgkin, los anticuerpos anti-CD20 para su uso en la invención se pueden administrar a un paciente humano en un intervalo de dosificación de 1 mg/kg a 20 mg/kg de peso corporal, preferentemente de 2,5 mg/kg a 10 mg/kg. En una realización para el tratamiento de un NHL, el anticuerpo anti-CD20 se administra a una dosis de 10 mg/kg o 375 mg/m².

De acuerdo con una realización, para el tratamiento de enfermedades autoinmunes, las terapias anti-CD20 se administran a 250-1.000 mg por dosis para 2-4 dosis cada dos semanas o cada tres semanas. Por ejemplo, para el tratamiento de la artritis reumatoide, en una realización, RituxanTM, que es un anticuerpo quimérico, se administra a 500 mg por dosis cada dos semanas para un total de 2 dosis. Un anticuerpo anti-CD20 humanizado, por ejemplo, hu2H7v.16 o cualquier otra variante de hu 2H7 como se desvela en el presente documento, se puede administrar a menos de 500 mg por dosis, tal como entre aproximadamente 200-500 mg por dosis, entre aproximadamente 250 mg-450 mg o 300-400 mg por dosis, para 2-4 dosis cada dos semanas o cada tres semanas.

De acuerdo con una realización, las terapias anti-BR3 se administran a 100 mg/m²-1.500 mg/m² semanales o de 1 mg/kg a 20 mg/kg de peso corporal cuando sea necesario.

Los métodos de tratamiento de la divulgación comprenden una combinación de la administración concurrente y secuencial del anticuerpo anti-CD20 y el antagonista de BAFF (ambos denominados en el presente documento los fármacos). En la administración secuencial, los fármacos se pueden administrar en cualquier orden, es decir, primero el antagonista de BAFF seguido del anticuerpo anti-CD20. El paciente se trata con un fármaco y se controla para determinar la eficacia antes del tratamiento con el fármaco. Como alternativa, el paciente puede recibir inicialmente ambos fármacos y la dosis subsiguiente puede ser con solo uno o el otro fármaco.

Para acondicionar al paciente para que tolere los fármacos y/o para reducir la aparición de efectos adversos, tales como los síntomas relacionados con la infusión que se derivan de las administraciones inicial y subsiguientes del compuesto terapéutico, el mamífero en necesidad del mismo puede recibir una primera dosis de acondicionamiento o dosis de acondicionamiento inicial de uno o ambos fármacos, y luego recibir al menos una segunda dosis terapéuticamente eficaz de uno o ambos fármacos en la que el segundo y cualquier dosis posterior sean superiores a la primera dosis. La primera dosis sirve para acondicionar al mamífero a que tolere la segunda dosis terapéutica mayor. De esta manera, el mamífero es capaz de tolerar dosis más altas del compuesto terapéutico de las que se podrían administrar inicialmente. Una "dosis de acondicionamiento" es una dosis que atenúa o reduce la frecuencia o la gravedad de los efectos secundarios adversos de la primera dosis asociados con la administración de un compuesto terapéutico. La dosis de acondicionamiento puede ser una dosis terapéutica, una dosis subterapéutica,

una dosis sintomática o una dosis subsintomática. Una dosis terapéutica es una dosis que presenta un efecto terapéutico en el paciente y una dosis subterapéutica es una dosis que no presenta un efecto terapéutico sobre el paciente tratado. Una dosis sintomática es una dosis que induce al menos un efecto adverso en la administración y una dosis subsintomática es una dosis que no induce un efecto adverso. Algunos efectos adversos son fiebre, dolor de cabeza, náuseas, vómitos, dificultad respiratoria, mialgias y escalofríos.

Vía de administración

Los agentes de agotamiento o promoción de linfocitos B y otros agentes terapéuticos se pueden administrar a un paciente humano mediante varios métodos, tales como mediante administración intravenosa, por ejemplo, como un bolo o por infusión continua durante un período de tiempo, por inyección subcutánea, intramuscular, intraperitoneal, intracerebroespinal, intraarticular, intrasinovial, intratecal, o por inhalación. El anticuerpo anti-CD20 se administrará, en general, mediante la administración intravenosa o subcutánea. Los fármacos se pueden administrar por la misma o diferente vía.

Kits

Otro aspecto de la divulgación es un kit que comprende un reactivo de unión a BAFF, tal como un anticuerpo anti-BAFF u otro polipéptido que se pueda unir a BAFF para su uso en la determinación de los niveles de BAFF en suero, y un marcador o prospecto que instruye sobre cómo están relacionados los niveles de BAFF en suero con los niveles de linfocitos B totales o niveles de linfocitos B tisulares en un paciente después del tratamiento con un agente de agotamiento o de promoción de los linfocitos B. Opcionalmente, el kit comprende el agente de agotamiento de los linfocitos B o de promoción de los linfocitos B. En una realización adicional, el kit comprende además instrucciones para volver a tratar al paciente con el agente de agotamiento de los linfocitos B u otro agente terapéutico basado en los niveles de BAFF en suero del paciente. El prospecto puede contener instrucciones para volver a tratar al paciente cuando los niveles de BAFF en suero son más altos o cuando los niveles de BAFF en suero están disminuyendo (por ejemplo, en la fase de recuperación de linfocitos B). Las instrucciones pueden indicar la repetición del tratamiento en o antes de la fase de recuperación de los linfocitos B tisulares antes de la fase de recuperación de linfocitos B periféricos.

El kit comprende al menos un recipiente y una etiqueta o un prospecto en o asociado con el recipiente. Los recipientes adecuados incluyen, por ejemplo, botes, viales, jeringas, etc. Los recipientes pueden estar formados de varios materiales tales como vidrio o plástico. El recipiente puede tener un puerto de acceso estéril para la extracción de un agente terapéutico (por ejemplo, el recipiente puede ser una bolsa de solución intravenosa o un vial que tenga un tapón perforable por una aguja de inyección hipodérmica). La etiqueta o el prospecto pueden indicar que la composición se usa para el tratamiento de la afección en particular, por ejemplo, linfoma no Hodgkin o artritis reumatoide. Además, el kit puede comprender además un segundo recipiente que comprenda un tampón farmacéuticamente aceptable, tal como agua bacteriostática para inyección (BWFI), solución salina tamponada con fosfato, solución de Ringer y solución de dextrosa. Puede incluir además otros materiales deseables desde un punto de vista comercial y del usuario, incluyendo otros tampones, diluyentes, filtros, agujas y jeringas.

Ejemplos de anticuerpos anti-BR3 específicos

Los anticuerpos para su uso en la presente invención incluyen específicamente anticuerpos que comprenden la secuencia de cadena pesada variable de uno cualquiera de los anticuerpos desvelados en la Tabla 2 (a continuación), y sus fragmentos de unión a BR3 que no han sido producidos por una célula de hibridoma. Los anticuerpos para su uso en la presente invención incluyen específicamente los anticuerpos que comprenden una secuencia de cadena pesada variable de uno cualquiera de los anticuerpos de la Tabla 2, los anticuerpos anti-BR3 que se pueden inhibir competitivamente mediante un anticuerpo de la Tabla 2 y sus fragmentos de unión a BR3. De acuerdo con una realización adicional, un anticuerpo para su uso en la presente invención comprende la región variable de cadena pesada y la región variable de cadena ligera de uno cualquiera de los anticuerpos desvelados en la Tabla 2, y sus fragmentos de unión a BR3.

Tabla 2. Ejemplos de secuencias de anticuerpos anti-BR3

ANTICUERPO	Dominio VH de SEQ ID NO:	Dominio VL de SEQ ID NO:
9.1	1 (VL)	2 (VH)
Hu9.1-injerto	3 (VL)	4 (VH)
Hu9.1-73	5 (VL)	6 (VH)
Hu9.1-70	7 (VL)	8 (VH)
Hu9.1-56	3 (VL)	9 (VH)
Hu9.1-51	3 (VL)	10 (VH)

ES 2 618 543 T3

Hu9.1-59	3 (VL)	11 (VH)
Hu9.1-61	3 (VL)	12 (VH)
Hu9.1-A	3 (VL)	13 (VH)
Hu9.1-B	3 (VL)	14 (VH)
Hu9.1-C	3 (VL)	15 (VH)
Hu9.1-66	3 (VL)	16 (VH)
Hu9.1-RF	3 (VL)	17 (VH)
Hu9.1-48	3 (VL)	18 (VH)
Hu9.1-RL	3 (VL)	19 (VH)
Hu9.1-91	3 (VL)	20 (VH)
Hu9.1-90	3 (VL)	21 (VH)
Hu9.1-75	3 (VL)	22 (VH)
Hu9.1-88	3 (VL)	23 (VH)
Hu9.1RL-9	3 (VL)	24 (VH)
Hu9.1RL-44	3 (VL)	25 (VH)
Hu9.1RL-13	3 (VL)	26 (VH)
Hu9.1RL-47	3 (VL)	27 (VH)
Hu9.1RL-28	3 (VL)	28 (VH)
Hu9.1RL-43	3 (VL)	29 (VH)
Hu9.1RL-16	3 (VL)	30 (VH)
Hu9.1RL-70	3 (VL)	31 (VH)
Hu9.1RL-30	3 (VL)	32 (VH)
Hu9.1RL-32	3 (VL)	33 (VH)
Hu9.1RL-37	3 (VL)	34 (VH)
Hu9.1RL-29	3 (VL)	35 (VH)
Hu9.1RL-10	3 (VL)	36 (VH)
Hu9.1RL-24	3 (VL)	37 (VH)
Hu9.1RL-39	3 (VL)	38 (VH)
Hu9.1RL-31	3 (VL)	39 (VH)
Hu9.1RL-18	3 (VL)	40 (VH)
Hu9.1RL-23	3 (VL)	41 (VH)
Hu9.1RL-41	3 (VL)	42 (VH)
Hu9.1RL-95	3 (VL)	43 (VH)
Hu9.1RL-14	3 (VL)	44 (VH)
Hu9.1RL-57	3 (VL)	45 (VH)
Hu9.1RL-15	3 (VL)	46 (VH)
Hu9.1RL-54	3 (VL)	47 (VH)
Hu9.1RL-12	3 (VL)	48 (VH)
Hu9.1RL-34	3 (VL)	49 (VH)

ES 2 618 543 T3

Hu9.1RL-25	3 (VL)	50 (VH)
Hu9.1RL-71	3 (VL)	51 (VH)
Hu9.1RL-5	3 (VL)	52 (VH)
Hu9.1RL-79	3 (VL)	53 (VH)
Hu9.1RL-66	3 (VL)	54 (VH)
Hu9.1RL-69	3 (VL)	55 (VH)
9.1RF-IgG	56(LC)	57 (HC)
V3-Fab	58(LC)	59 (HC)
V24	58(LC)	60 (VH)
V44	58(LC)	61 (VH)
V89	58(LC)	62 (VH)
V96	58(LC)	63 (VH)
V46	58(LC)	64 (VH)
V51	58(LC)	65 (VH)
V75	58(LC)	66 (VH)
V58	58(LC)	67 (VH)
V60	58(LC)	68 (VH)
V3-1	69 (VL)	70 (VH)
V3-11	71 (VL)	72 (VH)
V3-12	73 (VL)	74 (VH)
V3-13	75 (VL)	76 (VH)
V3-3	77 (VL)	78 (VH)
V3-5	79 (VL)	80 (VH)
V3-9	81 (VL)	70 (VH)
V3-16	69 (VL)	81 (VH)
V3-19	69 (VL)	82 (VH)
V3-24	83 (VL)	84 (VH)
V3-27	85 (VL)	86 (VH)
V3-34	87 (VL)	88 (VH)
V3-35	89 (VL)	90 (VH)
V3-37	91 (VL)	92 (VH)
V3-41	93 (VL)	94 (VH)
V3-46	95 (VL)	96 (VH)
V3-46a	95 (VL)	97 (VH)
V3-46q	95 (VL)	98 (VH)
V3-46s	95 (VL)	99 (VH)
V3-46sFab	100(LC)	101 (HC)
V3-46s-1	108(LC)	99 (VH)
V3-46s-7	109(LC)	99 (VH)

V3-46s-9	110(LC)	99 (VH)
V3-46s-10	111 (LC)	99 (VH)
V3-46s-12	112(LC)	107(VH)
V3-46s-13	113(LC)	99 (VH)
V3-46s-29	114(LC)	99 (VH)
V3-46s-31	115(LC)	99 (VH)
V3-46s-33	116(LC)	99 (VH)
V3-46s-34	117(LC)	99 (VH)
V3-46s-37	118(LC)	99 (VH)
V3-46s-40	119(LC)	99 (VH)
V3-46s-42	120(LC)	99 (VH)
V3-46s-45	121(LC)	99 (VH)

Los anticuerpos para su uso en la presente invención incluyen anticuerpos de unión a BR3 que tienen una secuencia de H3 que tiene al menos aproximadamente un 70 % de identidad de secuencia de aminoácidos, como alternativa al menos aproximadamente un 71 %, 72 %, 73 %, 74 %, 75 %, 76 %, 77 %, 78 %, 79 %, 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia de aminoácidos, con la secuencia de H3 de una cualquiera de las secuencias de la Tabla 2, y los fragmentos de unión a BR3 de dichos anticuerpos.

Los anticuerpos para su uso en la presente invención incluyen anticuerpos de unión a BR3 que tienen secuencias de H1, H2 y H3 que son al menos un 70 % idénticas a las CDR de una cualquiera de las secuencias de anticuerpos descritas en la Tabla 2 o, como alternativa, que tienen al menos aproximadamente un 71 %, 72 %, 73 %, 74 %, 75 %, 76 %, 77 %, 78 %, 79 %, 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia de aminoácidos. De acuerdo con una realización, H1, H2 y H3 son cada una al menos un 70 % idéntica a las SEQ ID NO: 124, 123 y 122, respectivamente, y el anticuerpo comprende opcionalmente una VL que comprende la SEQ ID NO: 3 o una VL que es al menos un 70 % idéntica a la SEQ ID NO: 3.

Los anticuerpos para su uso en la presente invención incluyen anticuerpos unión a BR3 que tienen las secuencias de L1, L2 y L3 que son al menos un 70 % idénticas a las CDR de uno cualquiera de los anticuerpos descritos en la Tabla 2 o, como alternativa, que tienen al menos aproximadamente un 71 %, 72 %, 73 %, 74 %, 75 %, 76 %, 77 %, 78 %, 79 %, 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia de aminoácidos. De acuerdo con una realización, la L1, L2 y L3 son cada una al menos un 70 % idéntica a las SEQ ID NO: 133, 134 y 135, respectivamente, y el anticuerpo comprende opcionalmente una VH que comprende la SEQ ID NO: 17 o una VH que es al menos un 70 % idéntica a la SEQ ID NO: 17.

Los anticuerpos para su uso en la presente invención incluyen anticuerpos de unión a BR3 que tienen un dominio VH con al menos un 70 % de homología con un dominio VH de uno cualquiera de los anticuerpos de la Tabla 2 o, como alternativa, que tienen al menos aproximadamente un 71 %, 72 %, 73 %, 74 %, 75 %, 76 %, 77 %, 78 %, 79 %, 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia de aminoácidos. En una realización adicional, además de dicha secuencia del dominio VH, dicho anticuerpo comprende además un dominio VL con al menos un 70 % de homología con el dominio VL del correspondiente anticuerpo de la Tabla 2 o, como alternativa, que tiene al menos aproximadamente un 71 %, 72 %, 73 %, 74 %, 75 %, 76 %, 77 %, 78 %, 79 %, 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, o 99 % de identidad de secuencia de aminoácidos. En una realización, el anticuerpo comprende la VH y VL de 9.1RF, o una variante de unión a anti-BR3 de la misma que comprende una VH que es al menos un 70 % idéntica a SEQ ID NO: 17 y una VL que es al menos un 70 % idéntica a la SEQ ID NO: 3.

De acuerdo con una realización preferida, los anticuerpos para su uso en la presente invención se unen específicamente a una secuencia de un polipéptido BR3 humano nativo. De acuerdo con otra realización más, un anticuerpo tiene mejor función de ADCC en presencia de células efectoras humanas en comparación con el anticuerpo conocido como 9.1-RF Ig. De acuerdo con otra realización más, un anticuerpo tiene menor función de ADCC en presencia de células efectoras humanas en comparación con el anticuerpo conocido como 9.1-RF Ig. De acuerdo otra realización, el anticuerpo fabricado mediante el proceso de expresión de secuencias de ácido nucleico

que codifican un anticuerpo a partir de una célula seleccionada del grupo que consiste en una célula de mamífero, una célula bacteriana, una célula fúngica, una célula de levadura, una célula de insecto y una célula vegetal.

- 5 Se entiende que todos los anticuerpos citados en el presente documento incluyen anticuerpos que carecen de una secuencia señal y los anticuerpos que carecen del resto K447 de la región Fc.

Ejemplos de anticuerpos anti-CD20 específicos

- 10 Los anticuerpo CD20 incluyen: "C2B8," que se denomina ahora "rituximab" ("RITUXAN®") (patente de EE.UU. n.º 5.736.137); anticuerpo murino 2B8 marcado con itrio-[90] designado "Y2B8" o "Ibritumomab Tiuxetan" (ZEVALIN®) disponible en el mercado en IDEC Pharmaceuticals, Inc. (patente de EE.UU. n.º 5.736.137; 2B8 depositado con el n.º de acceso de ATCC HB11388 el 22 de junio de 1993); la IgG2a murina "B1," también denominada "Tositumomab," opcionalmente marcada con ¹³¹I para generar el anticuerpo "131I-B1" o "tositumomab de yodo I131" (BEXXAR™) disponible en el mercado en Corixa (véase también, la patente de EE.UU. n.º 5.595.721); el anticuerpo monoclonal murino "1F5" (Press *et al. Blood* 69(2):584-591 (1987) y las variantes del mismo que incluyen 1F5 humanizado o "parcheado marco conservado" (documento WO 2003/002607, Leung, S.; depósito ATCC HB-96450); anticuerpo 2H7 murino y anticuerpo 2H7 quimérico (patente de EE.UU. n.º 5.677.180); un 2H7 humanizado (documento WO 2004/056312 Lowman *et al.*) y según lo expuesto más adelante); anticuerpo completamente humano HUMAX-CD20™ (Genmab, Dinamarca; véase, por ejemplo, Glennie y van de Winkel, *Drug Discovery Today* 8: 503-510 (2003) y Cragg *et al., Blood* 101: 1045-1052 (2003)); los anticuerpos monoclonales humanos expuestos en el documento WO 2004/035607 (Teeling *et al.*); los anticuerpos que tienen cadenas de azúcar con enlace de N-glicósido complejo unidas a la región Fc descritas en el documento US 2004/0093621 (Shitara *et al.*); moléculas de unión a CD20 tales como la serie AME de anticuerpos, por ejemplo, anticuerpos AME-133™ expuestos en el documento WO 2004/103404 (Watkins *et al.*, "Applied Molecular Evolution"); anticuerpo A20 o sus variantes tales como anticuerpo A20 quimérico o humanizado (cA20, hA20, respectivamente) (documento US 2003/0219433, Immunomedics); y los anticuerpos monoclonales L27, G28-2, 93-1B3, B-C1 o NU-B2 disponibles del "the International Leukocyte Typing Workshop" (Valentine *et al.*, en: "Leukocyte Typing III" (McMichael, Ed., pág. 440, Oxford University Press (1987)). Los anticuerpos CD20 preferidos en el presente documento son anticuerpos CD20 humanizados, quiméricos o humanos, más preferentemente, un anticuerpo 2H7 humanizado, rituximab, anticuerpo A20 quimérico o humanizado (Immunomedics) y anticuerpo CD20 humano HUMAX-CD20™ (Genmab).

A los efectos del presente documento, "2H7 humanizado" se refiere a un anticuerpo intacto o fragmento de anticuerpo que comprende la secuencia variable ligera (VL):

- 35 DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRASSSVSYMHWYQQKPGKAPKPLIYAPSNL
ASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQWSFNPPTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 136); y la secuencia variable pesada (VH):
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTSYNMHWVRQAPGKGLEWVGAI
YPGNQDTSYNQKFKGRFTISVDKSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVVYY
SNSYWFYFDVWGQGTLLTVSS
(SEQ ID NO: 137)

- 40 Cuando el anticuerpo 2H7 humanizado es un anticuerpo intacto, preferentemente comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de v16:

DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRASSSVSYMHWYQQKPGKAPKPLIYAPSNL
ASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQWSFNPPTFGQGTKVEIKR
TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNFPYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ
ESVTEQDSKDSSTLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGE
C (SEQ ID NO: 138); y

y la secuencia de aminoácidos de cadena pesada:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTSYNMHWVRQAPGKGLEWVGAI
 YPGNGDTSYNQKFKGRFTISVDKSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVVYY
 SNSYWYFDVWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY
 FPEPVTISWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN
 HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE
 EVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT
 VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMT
 KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTV
 DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
 (SEQ ID NO: 139).

La región V del resto de variantes basadas en la versión 16 tendrá las secuencias de aminoácidos de v16 excepto en las posiciones de las sustituciones de aminoácidos que se indican en la siguiente Tabla 3. A menos que se indique lo contrario, las variantes de 2H7 tendrán la misma cadena L que la de v16. El anticuerpo humanizado 2H7v.16 también se conoce como rhuMAb2H7 u Ocrelizumab.

TABLA 3

Versión de 2H7	Cambios en la cadena ligera (V _L)	Cambios en la cadena pesada (V _H)	Cambios en Fc
16 para referencia			-
31	-	-	S298A, E333A, K334A
73	M32L	N100A	
75	M32L	N100A	S298A, E333A, K334A
96	S92A	D56A, N100A	
114	M32L, S92A	D56A, N100A	S298A, E333A, K334A
115	M32L, S92A	D56A, N100A	S298A, E333A, K334A, E356D, M358L
116	M32L, S92A	D56A, N100A	S298A, K334A, K322A
138	M32L, S92A	D56A, N100A	S298A, E333A, K334A, K326A
477	M32L, S92A	D56A, N100A	S298A, E333A, K334A, K326A, N434W
375	-	-	K334L
588	-	-	S298A, E333A, K334A, K326A
511	M32L, S92A	D56A, N100Y, S100aR	S298A, E333A, K334A, K326A

TABLA 4

Versión de 2H7	SEQ ID NO. de V _L	SEQ ID NO. de V _H	SEQ ID NO. de cadena L completa	SEQ ID NO. de cadena H completa
16	136	137	138	139
114	144	145	140	141
138	144	145	140	142
511	144	146	140	143

La numeración de los restos es de acuerdo con Kabat *et al.*, "Sequences of Immunological Interest". 5ª edición. Servicio de Salud Pública, Institutos Nacionales de Salud, Bethesda, Md. (1991), mostrándose las inserciones como a, b, c, d, y e, y los huecos mostrados como guiones en las cifras de las secuencias. En los anticuerpos de unión a CD20 que comprenden la región Fc, se puede eliminar la lisina C-terminal (resto 447 de acuerdo con el sistema de numeración de la UE) de la región Fc, por ejemplo, durante la purificación del anticuerpo o por ingeniería recombinante del ácido nucleico que codifica el anticuerpo polipeptídico. Por consiguiente, una composición de anticuerpo de unión a CD20 útil en la presente invención puede comprender anticuerpo con K447, con todos los

K447 eliminados, o una mezcla de anticuerpo con y sin el resto K447.

El sitio de N-glicosilación en IgG está en Asn297 en el dominio CH2. Los anticuerpos de unión a CD20 y de unión a BR3 útiles en unión a los métodos de tratamiento de la presente divulgación incluyen composiciones de cualquiera de los anticuerpos anteriores que tienen una región Fc, en la que aproximadamente del 80 al 100 % (y preferentemente el aproximadamente 90-99 %) del anticuerpo de la composición comprende una estructura de hidrato de carbono central madura que carece de fucosa, unida a la región Fc de la glicoproteína.

Los anticuerpos de unión a CD20 engloban anticuerpos de unión a CD20 biespecíficos en los que un brazo del anticuerpo tiene una cadena H y L de un anticuerpo de unión a CD20 tal como una cadena H y L del anticuerpo 2H7 humanizado para su uso en la invención, y el otro brazo tiene especificidad de unión a la región V para un segundo antígeno. En realizaciones específicas, el segundo antígeno se selecciona del grupo que consiste en CD3, CD64, CD32A, CD16, NKG2D u otros ligandos activadores de NK.

MÉTODOS DE ENSAYO

Los niveles de BAFF en suero se pueden medir mediante varias técnicas. Las técnicas más convenientes para ensayar los niveles de BAFF en suero incluyen la transferencia Western, la transferencia puntual, ELISA, inmunoprecipitación o cualquier otro inmunoensayo o técnica que use anticuerpos anti-BAFF o moléculas que se unen específicamente a BAFF. Por ejemplo, se puede realizar un ELISA de tipo sándwich para la medición de la forma soluble de BAFF como se describe a continuación o en el Ejemplo 1. Véase también Zhang, J., *et al.*, (2001) *J. Immunol.* 166: 6-10. En resumen, se pueden recubrir placas de 96 pocillos con un anticuerpo monoclonal anti-BAFF murino purificado (clon 3D4, mIgG1) a 2 µg/ml en solución salina tamponada con fosfato (PBS) a 4 °C durante la noche y se bloquearon con albúmina de suero bovino al 1 % (BSA)/PBS. Todas las muestras se pueden diluir 1:10 en BSA al 3 %/PBS e incubarse en la placa de ELISA a 37 °C durante cuatro horas. Después del lavado, la placa se puede incubar primero con 0,2 µg/ml de anticuerpo anti-BAFF policlonal conjugado con biotina y después con estreptavidina conjugada con HRP diluida 1:30.000 (Southern Biotechnology, Birmingham, AL). Para evitar cualquier efecto de confusión de la actividad del factor reumatoide, se puede usar un isotipo mIgG1 como un control de fondo para el anticuerpo de captura con cada muestra. La reacción se puede desarrollar con el sustrato de trimetilbencidina (Sigma, St Louis, MO) y leerse en un lector de placas de E-Max (Molecular Devices, Sunnyvale, CA). En este ensayo, se pueden restar los valores de absorbancia de los pocillos de control de mIgG1 de los correspondientes pocillos de captura de anti-BAFF, resultando ser normalmente < 10 % de la absorbancia total. Se puede incorporar un curva patrón usando diluciones en serie de BAFF recombinante en cada ensayo.

Los reactivos disponibles en el mercado mencionados en los ejemplos se usaron, en general, según las instrucciones del fabricante a menos que se indique lo contrario. El origen de las células identificadas en los siguientes ejemplos, y en toda la memoria descriptiva, mediante los números de acceso de la ATCC es la Colección Americana de Cultivos Tipo, Manassas, VA. A menos que se indique lo contrario, la presente invención usa procedimientos convencionales de tecnología de ADN recombinante, tales como los descritos anteriormente en el presente documento y en los siguientes libros de texto: Sambrook *et al.*, *supra*; Ausubel *et al.*, "Current Protocols in Molecular Biology" (Green Publishing Associates and Wiley Interscience, N.Y., 1989); Innis *et al.*, "PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications" (Academic Press, Inc.: N.Y., 1990); Harlow *et al.*, "Antibodies: A Laboratory Manual" (Cold Spring Harbor Press: Cold Spring Harbor, 1988); Gait, "Oligonucleotide síntesis" (IRL Press: Oxford, 1984); Freshney, "Animal Cell Cultura", 1987; Coligan *et al.*, "Current Protocols in Immunology", 1991.

A lo largo de la presente memoria descriptiva y de las reivindicaciones, el término "comprenden" o las variaciones tales como "comprende" o "que comprende" se entenderá que implican la inclusión de un número entero o grupo de números enteros pero no la exclusión de ningún otro número entero ni grupo de números enteros.

La anterior descripción escrita se considera que basta para permitir a un experto en la materia poner en práctica la invención. Los siguientes ejemplos se ofrecen con fines meramente ilustrativos, y no pretenden limitar el alcance de la presente invención de ninguna manera. De hecho, diversas modificaciones de la invención, además de las mostradas y descritas en el presente documento, serán evidentes para los expertos en la materia a partir de la descripción anterior.

Ejemplos

Ejemplo 1 - La BAFF en suero se regula positivamente tras el agotamiento de los linfocitos B en ratones

Se inyectaron ratones con 200 µg de control (IgG2a de ratón), anticuerpo anti-BR3 o anticuerpo anti-CD20 (N = 5 ratones/grupo). Siete días después de la inyección, se analizaron los ratones para determinar el agotamiento de los linfocitos B y los niveles de BAFF. Por lo general, los niveles de BAFF en suero se determinaron de la siguiente manera: se diluyó BCMA-Fc humano (Genentech, Inc.) hasta 0,5 µg/ml en PBS y se usó para recubrir placas de ELISA de 384 pocillos (Immuno Plate con la superficie MaxiSorp, Nunc, Neptuno, NJ) mediante la incubación durante 12-72 horas a 2-8 °C. Tras bloquear con PBS/BSA al 0,5 %, se añadieron las muestras de suero de ratón diluidas en tampón de muestra (PBS/BSA al 0,5 %/Tween-20 al 0,05 %/CHAPS al 0,25 %/gammaglobulina bovina al

0,2 %/EDTA 5 mM/NaCl 0,35 M) a la placa. Se incubó la placa durante 2 horas a temperatura ambiente con agitación suave en un agitador de placa orbital. A continuación, se lavaron las placas en tampón de lavado de PBS + Tween-20 al 0,05 % a temperatura ambiente. También se añadió una curva patrón de BAFF de ratón (Genentech, Inc.) diluido en el mismo tampón (intervalo: de 1.000 a 15,6 pg/ml). Se detectó BAFF unida a la placa con un anticuerpo monoclonal de rata anti-BAFF de ratón (R & D Systems, Minneapolis, MN), y el anticuerpo monoclonal anti-BAFF unido se detectó usando un anticuerpo Fc-HRP anti-IgG de rata de cabra (Jackson ImmunoResearch, West Grove, PA). El color se desarrolló usando tetrametilbencidina (TMB) (Kirkegaard & Perry Laboratories, Gaithersburg, MD), y la reacción se detuvo con ácido fosfórico 1 M. Se interpolaron concentraciones de BAFF de muestra a partir de un ajuste de 4 parámetros de la curva patrón de BAFF. La concentración cuantificable mínima, dada una dilución mínima de las muestras de suero de 1/4, resultó ser de 62,5 pg/ml.

Los tratamientos bien con anticuerpo anti-BR3 (Genentech, Inc.) o anticuerpo anti-CD20 (Genentech, Inc.) dieron como resultado una agotamiento de los linfocitos B en sangre > 95 % y una agotamiento de los linfocitos B en el bazo y los ganglios linfático > 75 %. Al mismo tiempo, los niveles de BAFF en suero aumentaron de 10 a 20 veces después del tratamiento con anticuerpo anti-BR3 y de 4 a 10 veces después del tratamiento con anti-CD20. Véase la Figura 1.

Basándose en estos resultados, se planteó la hipótesis de que podría haber una correlación entre los niveles de BAFF en suero y el grado de agotamiento de los linfocitos B en los tejidos. Esta hipótesis está apoyada por los datos de las cuatro figuras siguientes. Sin quedar ligados por la teoría, es probable que los niveles de BAFF en suero puedan ser dependientes de los niveles de sus receptores presentes. De esta manera, un aumento en el agotamiento de los linfocitos B o el bloqueo del receptor de BAFF daría lugar a un aumento de la concentración de BAFF en suero.

Ejemplo 2 – La regulación positiva de BAFF en suero se correlaciona con el grado de agotamiento de los linfocitos B titulares anti-CD20 en ratones

Se trataron cinco ratones/grupo con el control (mlgG2a), 1,25 ug, 12,5 ug o 125 ug de anticuerpo anti-CD20 (2H7 de ratón). Se midió el agotamiento de los linfocitos B en sangre y bazo por citometría de flujo tres días más tarde. Los niveles de BAFF en suero se representan frente al % de agotamiento de los linfocitos B. Se consideró que los ratones de control tenían un 0 % de agotamiento de los linfocitos B. La Figura 2 muestra que se agotó un gran número de linfocitos B de la sangre de los ratones tratados con 12,5 ug y 125 ug. Por el contrario, solo la dosis mayor agotó altos números de linfocitos B en el bazo. Hubo una buena correlación dependiente de la dosis entre los niveles de BAFF aumentados en suero y el aumento del agotamiento de los linfocitos B tisulares (por ejemplo, bazo). Véase la Figura 2.

Ejemplo 3 - La BAFF en suero es un predictor de la repleción de los linfocitos B tisulares en ratones con agotamiento de los linfocitos B

Se trataron grupos de ratones con anticuerpo anti-BR3 o anticuerpo anti-CD20 (200 ug/ratón). Se midió el agotamiento de los linfocitos B usando citometría de flujo (células positivas en B220 o CD19) con muestras de sangre y de bazo en diferentes puntos temporales. Las muestras de los ratones de control tratados con mlgG2a se usaron como muestras de control para determinar el % de agotamiento de los linfocitos B. Tras el tratamiento con anti-BR3, se produjo cierta agotamiento de los linfocitos B en sangre el día 1 con un poco más de agotamiento de los linfocitos B en sangre al séptimo día. En el bazo, por el contrario, solo hubo un agotamiento mínimo de los linfocitos B tisulares el primer día y un amplio agotamiento de los linfocitos B tisulares al séptimo día. Al mismo tiempo, los niveles de BAFF en suero aumentaron proporcionalmente entre el día 1 y día 7. Por lo tanto, los niveles de BAFF en suero y los niveles de linfocitos B tisulares (por ejemplo, del bazo y de otros órganos linfoides) fueron inversamente proporcionales después del tratamiento con el agente de agotamiento de los linfocitos B. De manera similar, los ratones tratados con anti-CD20 tuvieron altos niveles de BAFF en suero al séptimo día del tratamiento.

Tras el tratamiento de máxima agotamiento de los linfocitos B tisulares, los niveles de BAFF en suero disminuían a medida que se recuperaban los niveles de linfocitos B en el tejido. Solo después se recuperaron los niveles de linfocitos B en sangre. Esto indica que los niveles de BAFF en suero son los primeros indicadores para evaluar la repleción de los linfocitos B en los tejidos mientras que los linfocitos B siguen agotados en la sangre.

Ejemplo 4 - Agotamiento de los linfocitos B periféricos anti-BR3 y nivel de BAFF soluble en sangre de Cyno

Al igual que en los ratones, el tratamiento de primates no humanos (monos Cynomolgus) con anticuerpo anti-BR3 provoca el agotamiento de los linfocitos B en los tejidos con un aumento de los niveles de BAFF en los sueros.

La Figura 4A muestra el % de agotamiento de los linfocitos B en sangre CD20 y los niveles de BAFF en suero en monos tratados con una sola dosis de 20 mg/kg de anticuerpo anti-BR3 a lo largo de un período de evaluación posterior al tratamiento de 6 meses. Se calculó el % de agotamiento de los linfocitos B en sangre CD20 comparando las muestras de ensayo con las muestras de los monos antes del tratamiento con anticuerpo anti-BR3. Los monos experimentaron una fase de agotamiento máxima de los linfocitos B en sangre que coincidió con los niveles

elevados de BAFF en suero (delta+), seguidos posteriormente por una caída en los niveles de BAFF en suero (delta-) y coincidiendo con la repleción de los linfocitos B. Dos monos, marcados como 1 y 2 en la Figura 4A, se señalan durante el agotamiento y se estudian con más detalle como se describe en la Figura 4B. La Figura 4B muestra una representación cinética del agotamiento de los linfocitos B y BAFF en suero en los monos 1 y 2. Las flechas muestran que los niveles máximos de BAFF en suero coinciden con el agotamiento máxima de los linfocitos B, seguida por una caída en los niveles de BAFF en suero y menos agotamiento de los linfocitos B (véase la dirección de la flecha). Esto sugiere que la caída de BAFF en suero hasta la línea basal (delta-) es anterior a la recuperación de los linfocitos B en sangre.

- 10 Ejemplo 5 – Agotamiento de los linfocitos B CD20 periféricos y niveles de BAFF solubles en la sangre de Cyno después del tratamiento con anticuerpo anti-BR3 - cinéticas individuales en dos monos Cyno representativos

Los datos de los dos monos Cyno estudiados en el Ejemplo 4 se representan como curvas cinéticas continuas en la Figura 5. Ambos monos muestran que los niveles de BAFF en suero aumentan de manera concomitante (delta+) con el agotamiento de los linfocitos B en sangre. Como se observa en el mono Cyno n.º 01 (Figura 5A), los niveles de BAFF en suero caen hacia el día ~22 (delta-) y la fase de recuperación de los linfocitos B comienza y se completa hacia el día ~40. En el mono Cyno n.º 09 (Figura 5B), los niveles de BAFF en suero aumentan, mientras que los niveles de linfocitos B en sangre se reducen. El mono Cyno n.º 09 mostró poca o ninguna recuperación de los linfocitos B en sangre (ver más allá del día 50). Este estudio demuestra una vez más la relación inversa entre los niveles de BAFF en suero y los niveles de linfocitos B en la sangre de los monos Cyno y, se cree que el retraso entre el agotamiento de los linfocitos B y la repleción en la sangre en comparación con el tejido observado en los ratones se traduce en los primates. Por lo tanto, los niveles de BAFF en suero presentan una excelente indicador temprano del tamaño del compartimiento de los linfocitos B tisulares (bazo, ganglios linfáticos, etc.).

25 LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Genentech, Inc. et al.

<120> Métodos y composiciones relacionados con ensayos de linfocitos B

<130> 50474/002WO3

<140> PCT/US06/45148

<141> 21-11-2006

<150> US 60/857.925

<151> 10-11-2006

<150> US 60/739.266

<151> 23-11-2005

<160> 146

<170> Patent In versión 3.3

<210> 1

<211> 108

<212> PRT

<213> *Mus* sp.

<400> 1

ES 2 618 543 T3

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

Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser
 20 25 30

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

Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
 50 55 60

Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
 65 70 75 80

Ile Ser Ser Val Lys Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln
 85 90 95

Tyr Tyr Thr Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr
 100 105

<210> 2
 <211> 123
 <212> PRT
 <213> *Mus* sp.
 <400> 2

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

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

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

Gly Phe Ile Arg Asp Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Asn Pro
 50 55 60

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

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

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

Thr Val Thr Val Ser Ala Ala Ser Thr Lys Gly
 115 120

ES 2 618 543 T3

<210> 3
 <211> 114
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> Construcción sintética

<400> 3

10

```

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser
          20           25           30

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

Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
          50           55           60

Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65           70           75           80

Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln
          85           90           95

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

Lys Arg
  
```

<210> 4
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15

<220>
 <223> Construcción sintética

20

<400> 4

ES 2 618 543 T3

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

- 5 <210> 5
 <211> 114
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 10 <220>
 <223> Construcción sintética
 <400> 5

ES 2 618 543 T3

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser
20 25 30

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

Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Gln His Leu Asp Ser Gly Val
50 55 60

Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln
85 90 95

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

Lys Arg

<210> 6

<211> 118

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 6

ES 2 618 543 T3

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Leu Pro Met Ala Gly Phe
20 25 30

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

Gly Phe Ile Arg Asp Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Asn Pro
50 55 60

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

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

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

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 7
<211> 114
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 7

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser
20 25 30

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

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

Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln
85 90 95

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

Lys Arg

<210> 8
<211> 118
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 8

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Asp Ser Pro Arg Ser Gly Tyr
20 25 30

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

Gly Phe Ile Arg Asp Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Asn Pro
50 55 60

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

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

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

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

ES 2 618 543 T3

<210> 9
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> Construcción sintética

<400> 9

10

```

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

<210> 10
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15

<220>
 <223> Construcción sintética

20

<400> 10

ES 2 618 543 T3

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

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

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

Gly Phe Ile Arg Asp Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Asn Pro
50 55 60

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

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

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

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 11

<211> 118

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 11

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Ser Pro Ala Val Ala Pro His
20 25 30

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

Gly Phe Ile Arg Asp Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Asn Pro
50 55 60

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

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

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

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 12
<211> 118
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 12

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

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

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

Gly Phe Ile Arg Asp Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Asn Pro
50 55 60

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

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

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

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 13
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> Construcción sintética

<400> 13

10

```

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

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

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

Gly Phe Ile Arg Asp Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Asn Pro
50           55           60

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

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

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

Leu Val Thr Val Ser Ser
          115
    
```

<210> 14
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15

<220>
 <223> Construcción sintética

20

<400> 14

ES 2 618 543 T3

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

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

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

Gly Phe Ile Arg Asp Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Asn Pro
50 55 60

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

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

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

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 15

<211> 118

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 15

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

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

ES 2 618 543 T3

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

Gly Phe Ile Arg Asp Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Asn Pro
50 55 60

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

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

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

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 16

<211> 118

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 16

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

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

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

Gly Phe Ile Arg Asp Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Asn Pro
50 55 60

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

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

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

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

ES 2 618 543 T3

<210> 17
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> Construcción sintética

<400> 17

10

```

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

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

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

Gly Phe Ile Arg Asp Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Asn Pro
          50           55           60

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

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

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

Leu Val Thr Val Ser Ser
          115
  
```

<210> 18
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15

<220>
 <223> Construcción sintética

20

<400> 18

ES 2 618 543 T3

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Trp Thr Glu His Gly His
20 25 30

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

Gly Phe Ile Arg Asp Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Asn Pro
50 55 60

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

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

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

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 19

<211> 118

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> Construcción sintética

<400> 19

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

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

ES 2 618 543 T3

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

Gly Phe Ile Arg Asp Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Asn Pro
50 55 60

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

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

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

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 20

<211> 118

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 20

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Pro Arg Arg Gly Tyr
20 25 30

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

Gly Phe Ile Arg Asp Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Asn Pro
50 55 60

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

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

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

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 21
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> Construcción sintética

<400> 21

10

```

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

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

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

Gly Phe Ile Arg Asp Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Asn Pro
 50           55           60

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

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

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

Leu Val Thr Val Ser Ser
          115
    
```

<210> 22
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15

<220>
 <223> Construcción sintética

20

<400> 22

ES 2 618 543 T3

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

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

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

Gly Phe Ile Arg Asp Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Asn Pro
50 55 60

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

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

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

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 23
<211> 118
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 23

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

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

ES 2 618 543 T3

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

Gly Phe Ile Arg Asp Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Asn Pro
50 55 60

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

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

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

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 24

<211> 118

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 24

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

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

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

Gly Phe Ile Arg Asp Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Asn Pro
50 55 60

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

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

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

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 25
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> Construcción sintética

<400> 25

10

```

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

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

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

Gly Phe Ile Arg Asp Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Asn Pro
50           55           60

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

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

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

Leu Val Thr Val Ser Ser
          115
    
```

<210> 26
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15

<220>
 <223> Construcción sintética

20

<400> 26

ES 2 618 543 T3

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ile Thr Val Thr Ala Ser
20 25 30

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

Gly Phe Ile Arg Asp Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Asn Pro
50 55 60

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

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

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

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 27

<211> 118

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> Construcción sintética

<400> 27

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

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

ES 2 618 543 T3

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

Gly Phe Ile Arg Asp Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Asn Pro
50 55 60

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

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

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

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 28

<211> 118

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 28

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

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

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

Gly Phe Ile Arg Asp Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Asn Pro
50 55 60

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

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

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

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

5 <210> 29
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Construcción sintética

10 <400> 29

```

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

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

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

Gly Phe Ile Arg Asp Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Asn Pro
50           55           60

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

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

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

Leu Val Thr Val Ser Ser
          115
  
```

15 <210> 30
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 20 <223> Construcción sintética
 <400> 30

ES 2 618 543 T3

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Ile Ala Thr Gly His
20 25 30

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

Gly Phe Ile Arg Asp Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Asn Pro
50 55 60

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

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

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

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 31
<211> 118
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 31

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

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

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

Gly Phe Ile Arg Asp Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Asn Pro
50 55 60

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

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

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

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 32

<211> 118

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 32

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

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

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

Gly Phe Ile Arg Asp Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Asn Pro
50 55 60

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

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

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

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

ES 2 618 543 T3

<210> 33
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> Construcción sintética

<400> 33

10

```

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

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

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

Gly Phe Ile Arg Asp Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Asn Pro
    50           55           60

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

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

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

Leu Val Thr Val Ser Ser
          115
  
```

<210> 34
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15

<220>
 <223> Construcción sintética

20

<400> 34

ES 2 618 543 T3

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Leu Ser Met Thr Gly Val
20 25 30

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

Gly Phe Ile Arg Asp Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Asn Pro
50 55 60

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

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

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

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 35

<211> 118

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 35

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

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

ES 2 618 543 T3

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

Gly Phe Ile Arg Asp Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Asn Pro
50 55 60

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

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

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

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 36

<211> 118

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 36

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

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

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

Gly Phe Ile Arg Asp Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Asn Pro
50 55 60

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

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

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

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 37
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> Construcción sintética

<400> 37

10

```

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

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

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

Gly Phe Ile Arg Asp Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Asn Pro
 50           55           60

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

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

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

Leu Val Thr Val Ser Ser
          115
    
```

<210> 38
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15

<220>
 <223> Construcción sintética

20

<400> 38

ES 2 618 543 T3

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

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

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

Gly Phe Ile Arg Asp Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Asn Pro
50 55 60

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

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

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

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 39

<211> 118

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 39

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

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

ES 2 618 543 T3

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

Gly Phe Ile Arg Asp Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Asn Pro
50 55 60

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

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

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

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 40

<211> 118

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 40

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

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

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

Gly Phe Ile Arg Asp Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Asn Pro
50 55 60

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

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

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

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 41
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> Construcción sintética

<400> 41

10

```

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

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

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

Gly Phe Ile Arg Asp Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Asn Pro
 50           55           60

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

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

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

Leu Val Thr Val Ser Ser
          115
    
```

<210> 42
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15

<220>
 <223> Construcción sintética

20

<400> 42

ES 2 618 543 T3

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

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

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

Gly Phe Ile Arg Asp Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Asn Pro
50 55 60

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

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

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

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 43

<211> 118

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> Construcción sintética

<400> 43

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

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

ES 2 618 543 T3

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

Gly Phe Ile Arg Asp Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Asn Pro
50 55 60

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

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

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

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 44

<211> 118

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 44

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

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

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

Gly Phe Ile Arg Asp Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Asn Pro
50 55 60

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

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

ES 2 618 543 T3

85

90

95

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

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 45

<211> 118

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 45

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

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

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

Gly Phe Ile Arg Asp Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Asn Pro
50 55 60

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

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

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

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 46

<211> 118

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 46

ES 2 618 543 T3

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ile Ser Leu Asn Gly Tyr
20 25 30

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

Gly Phe Ile Arg Asp Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Asn Pro
50 55 60

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

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

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

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 47

<211> 118

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> Construcción sintética

<400> 47

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

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

ES 2 618 543 T3

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

Gly Phe Ile Arg Asp Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Asn Pro
50 55 60

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

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

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

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 48

<211> 118

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 48

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

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

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

Gly Phe Ile Arg Asp Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Asn Pro
50 55 60

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

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

ES 2 618 543 T3

85

90

95

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

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 49

<211> 118

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 49

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

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

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

Gly Phe Ile Arg Asp Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Asn Pro
50 55 60

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

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

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

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 50

<211> 118

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 50

ES 2 618 543 T3

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

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

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

Gly Phe Ile Arg Asp Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Asn Pro
50 55 60

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

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

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

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 51

<211> 118

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> Construcción sintética

<400> 51

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

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

ES 2 618 543 T3

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

Gly Phe Ile Arg Asp Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Asn Pro
50 55 60

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

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

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

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 52

<211> 118

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 52

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

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

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

Gly Phe Ile Arg Asp Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Asn Pro
50 55 60

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

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

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

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

ES 2 618 543 T3

<210> 53
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> Construcción sintética

<400> 53

10

```

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

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

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

Gly Phe Ile Arg Asp Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Asn Pro
50           55           60

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

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

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

Leu Val Thr Val Ser Ser
          115
  
```

<210> 54
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15

<220>
 <223> Construcción sintética

20

<400> 54

ES 2 618 543 T3

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

<210> 55
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Construcción sintética

<400> 55

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Gly Gly Thr Phe
 20 25 30

ES 2 618 543 T3

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

Gly Phe Ile Arg Asp Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Asn Pro
50 55 60

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

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

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

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 56

<211> 220

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 56

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser
20 25 30

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

Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60

Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln

ES 2 618 543 T3

85

90

95

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

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

Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
130 135 140

Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu
145 150 155 160

Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp
165 170 175

Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr
180 185 190

Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser
195 200 205

Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215 220

<210> 57

<211> 447

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 57

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

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

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

ES 2 618 543 T3

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

ES 2 618 543 T3

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

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

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

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
325 330 335

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

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

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

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

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

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

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

<210> 58

<211> 214

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 58

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

ES 2 618 543 T3

```

1           5           10           15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala
      20           25           30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
      35           40           45

Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
      50           55           60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
      65           70           75           80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Thr Thr Pro Pro
      85           90           95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
      100          105          110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
      115          120          125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
      130          135          140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
      145          150          155          160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
      165          170          175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
      180          185          190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
      195          200          205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
      210

```

<210> 59

<211> 232

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 59

ES 2 618 543 T3

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

<210> 60

<211> 119

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

ES 2 618 543 T3

<223> Construcción sintética

<400> 60

```

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Arg Ala Phe Val Met Ser Gly Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
          100          105          110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
          115

```

5

<210> 61

<211> 117

<212> PRT

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

15

<400> 61

ES 2 618 543 T3

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

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

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

Ala Trp Ile Tyr Pro Asp Gly Gly Tyr Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Ser Lys Pro Ala Gly Pro Phe Gly Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 62

<211> 119

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 62

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Ile Thr Gly Tyr

ES 2 618 543 T3

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

<210> 63
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Construcción sintética

<400> 63

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

ES 2 618 543 T3

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

Ala Lys Gly Phe His Trp Tyr Arg Gly Phe Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 64

<211> 116

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 64

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

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

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

Ala Trp Ile Tyr Pro Asp Gly Gly Tyr Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

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

Thr Val Ser Ser
115

<210> 65

<211> 125

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 65

ES 2 618 543 T3

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Arg Lys Val Val Ser Ser His Val Thr Asn Lys Tyr Val Met
100 105 110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 66

<211> 121

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 66

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Ile Asn Gly Ser

ES 2 618 543 T3

	20		25		30
Trp	Ile	His	Trp	Val	Arg
	35				40
Ala	Trp	Ile	Thr	Pro	Ser
	50				55
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile
	65				70
Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu
			85		90
Ala	Arg	Leu	Ser	Arg	Arg
		100			105
Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr
		115			120

<210> 67
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Construcción sintética

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (30)..(33)
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (54)..(55)
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (59)..(59)
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (99)..(104)
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural

<400> 67

ES 2 618 543 T3

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

<210> 68

<211> 120

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<220>

<221> misc_feature

<222> (30)..(33)

<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural

<220>

<221> misc_feature

<222> (50)..(50)

<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural

<220>

<221> misc_feature

<222> (54)..(55)

<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural

<220>

<221> misc_feature

<222> (104)..(105)

<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural

<400> 68

ES 2 618 543 T3

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

<210> 69
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Construcción sintética

<400> 69

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala

ES 2 618 543 T3

20

25

30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Arg Ile Thr Pro Pro
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 70

<211> 125

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 70

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Arg Val Cys Tyr Asn Arg Leu Gly Val Cys Ala Gly Gly Met
100 105 110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 71

ES 2 618 543 T3

<211> 108
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <223> Construcción sintética

<400> 71

```

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala
          20           25           30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
          35           40           45

Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
          50           55           60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65           70           75           80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Thr Ser Thr Ser Pro Pro
          85           90           95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
          100          105
  
```

10

<210> 72
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15

<220>
 <223> Construcción sintética

20

<400> 72

ES 2 618 543 T3

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Arg Val Cys Tyr Asn Asn Leu Gly Val Cys Ala Gly Ala Met
100 105 110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 73

<211> 108

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> Construcción sintética

<400> 73

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

ES 2 618 543 T3

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 74
<211> 125
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 74

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Arg Val Cys Tyr Asp Arg Ala Arg Val Cys Ala Gly Ala Met
100 105 110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 75
<211> 108
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 75

ES 2 618 543 T3

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

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

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser His Ala Ser Pro Pro
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 76

<211> 125

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 76

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

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

ES 2 618 543 T3

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

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

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

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

Ala Arg Arg Val Cys Tyr Ser Ser Val Arg Gly Cys Ala Gly Ala Met
100 105 110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 77

<211> 108

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 77

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Arg Ile Ser Pro Pro
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 78

<211> 125

<212> PRT

ES 2 618 543 T3

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

5

<400> 78

```

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

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

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

Ala Trp Val Thr Pro Ser Gly Gly Ser Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Val
          50           55           60

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

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

Ala Arg Arg Val Cys Tyr Asn Arg Leu Gly Val Cys Ala Gly Gly Met
          100          105          110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
          115          120          125

```

10

<210> 79

<211> 125

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 79

ES 2 618 543 T3

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

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

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

Ala Trp Ile Thr Pro Gly His Gly Ser Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Arg Val Cys Tyr Asn Arg Leu Gly Val Cys Ala Gly Gly Met
100 105 110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 80

<211> 108

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 80

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

ES 2 618 543 T3

Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser His Asn Thr Pro Pro
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 81
<211> 125
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 81

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser Ile Ser Ser Asn
20 25 30

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

Ala Trp Ile Thr Pro Thr His Gly Ser Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Arg Val Cys Tyr Asn Arg Leu Gly Val Cys Ala Gly Gly Met
100 105 110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

120

125

<210> 82
<211> 125
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

ES 2 618 543 T3

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 82

5

```

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

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

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

Ala Trp Ile Leu Pro Ser Ala Gly Ser Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Val
50           55           60

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

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

Ala Arg Arg Val Cys Tyr Asn Arg Leu Gly Val Cys Ala Gly Gly Met
100          105          110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115          120          125

```

<210> 83

<211> 108

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 83

10

15

```

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

```

ES 2 618 543 T3

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

<210> 84
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Construcción sintética

<400> 84

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

ES 2 618 543 T3

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

Ala Arg Arg Val Cys Tyr Asn Arg Leu Gly Val Cys Ala Gly Gly Met
100 105 110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 85

<211> 108

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 85

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Arg Met Ser Pro Pro
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 86

<211> 125

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 86

ES 2 618 543 T3

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Arg Val Cys Tyr Asn His Leu Gly Val Cys Ala Gly Gly Met
100 105 110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 87

<211> 108

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 87

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

ES 2 618 543 T3

35

40

45

Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Arg Thr Thr Pro Pro
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 88

<211> 125

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 88

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

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

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

Ala Trp Val Thr Pro Ser Tyr Gly Ile Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Arg Val Cys Tyr Asn Arg Leu Gly Val Cys Ala Gly Gly Met
100 105 110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 89

<211> 108

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 89

5

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Leu Met Thr Pro Pro
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 90

<211> 125

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

10

<220>

<223> Construcción sintética

15

<400> 90

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

ES 2 618 543 T3

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

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

Ala Trp Val Thr Pro Gly Val Gly Ser Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Arg Val Cys Tyr Asn Arg Leu Gly Val Cys Ala Gly Gly Met
100 105 110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 91

<211> 108

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 91

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Arg Ile Ser Pro Pro
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105

ES 2 618 543 T3

<210> 92
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> Construcción sintética

<400> 92

10

```

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

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

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

Ala Trp Ile Thr Pro Leu Tyr Gly Ser Thr His Tyr Ala Asp Ser Val
50           55           60

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

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

Ala Arg Arg Val Cys Tyr Asn Arg Leu Gly Val Cys Ala Gly Gly Met
100          105          110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115          120          125
  
```

<210> 93
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15

<220>
 <223> Construcción sintética

20

<400> 93

ES 2 618 543 T3

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Gly Ile Ser Pro Pro
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 94

<211> 125

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 94

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser Ile Arg Asn Asn
20 25 30

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

ES 2 618 543 T3

Ala Trp Val Leu Pro Ser Asn Gly Val Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Arg Val Cys Tyr Asn Arg Leu Gly Val Cys Ala Gly Gly Met
100 105 110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 95

<211> 108

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 95

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Gln Ile Ser Pro Pro
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg

100

105

<210> 96

<211> 125

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

ES 2 618 543 T3

<223> Construcción sintética

<400> 96

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

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

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

Ala Trp Val Leu Pro Ser Val Gly Phe Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Arg Val Cys Tyr Asn Arg Leu Gly Val Cys Ala Gly Gly Met
100 105 110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

5

<210> 97

<211> 125

<212> PRT

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

15 <400> 97

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

ES 2 618 543 T3

```

1           5           10           15

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

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

Ala Trp Val Leu Pro Ser Val Gly Phe Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Val
      50           55           60

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

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

Ala Arg Arg Val Cys Tyr Asn Arg Leu Gly Val Cys Ala Gly Gly Met
      100          105          110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
      115          120          125

```

<210> 98

<211> 125

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 98

```

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

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

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

Ala Trp Val Leu Pro Ser Val Gly Phe Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Val
      50           55           60

```

ES 2 618 543 T3

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

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

Ala Arg Arg Val Cys Tyr Asn Arg Leu Gly Val Cys Ala Gly Gly Met
100 105 110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 99

<211> 125

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 99

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

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

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

Ala Trp Val Leu Pro Ser Val Gly Phe Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Arg Val Cys Tyr Asn Arg Leu Gly Val Cys Ala Gly Gly Met
100 105 110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

120

125

<210> 100

<211> 214

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 100

5

```

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala
          20           25           30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
          35           40           45

Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50           55           60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65           70           75           80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Gln Ile Ser Pro Pro
          85           90           95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
          100          105          110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
          115          120          125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
          130          135          140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
          145          150          155          160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
          165          170          175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
          180          185          190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
          195          200          205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
          210

```

<210> 101

<211> 232

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10

<223> Construcción sintética

<400> 101

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

ES 2 618 543 T3

<210> 102
 <211> 285
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 102

```

Met Asp Asp Ser Thr Glu Arg Glu Gln Ser Arg Leu Thr Ser Cys Leu
 1          5          10          15

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

Arg Lys Glu Ser Pro Ser Val Arg Ser Ser Lys Asp Gly Lys Leu Leu
          35          40          45

Ala Ala Thr Leu Leu Leu Ala Leu Leu Ser Cys Cys Leu Thr Val Val
 50          55          60

Ser Phe Tyr Gln Val Ala Ala Leu Gln Gly Asp Leu Ala Ser Leu Arg
65          70          75          80

Ala Glu Leu Gln Gly His His Ala Glu Lys Leu Pro Ala Gly Ala Gly
          85          90          95
  
```

ES 2 618 543 T3

Ala Pro Lys Ala Gly Leu Glu Glu Ala Pro Ala Val Thr Ala Gly Leu
100 105 110

Lys Ile Phe Glu Pro Pro Ala Pro Gly Glu Gly Asn Ser Ser Gln Asn
115 120 125

Ser Arg Asn Lys Arg Ala Val Gln Gly Pro Glu Glu Thr Val Thr Gln
130 135 140

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

Gly Ser Tyr Thr Phe Val Pro Trp Leu Leu Ser Phe Lys Arg Gly Ser
165 170 175

Ala Leu Glu Glu Lys Glu Asn Lys Ile Leu Val Lys Glu Thr Gly Tyr
180 185 190

Phe Phe Ile Tyr Gly Gln Val Leu Tyr Thr Asp Lys Thr Tyr Ala Met
195 200 205

Gly His Leu Ile Gln Arg Lys Lys Val His Val Phe Gly Asp Glu Leu
210 215 220

Ser Leu Val Thr Leu Phe Arg Cys Ile Gln Asn Met Pro Glu Thr Leu
225 230 235 240

Pro Asn Asn Ser Cys Tyr Ser Ala Gly Ile Ala Lys Leu Glu Glu Gly
245 250 255

Asp Glu Leu Gln Leu Ala Ile Pro Arg Glu Asn Ala Gln Ile Ser Leu
260 265 270

Asp Gly Asp Val Thr Phe Phe Gly Ala Leu Lys Leu Leu
275 280 285

<210> 103
<211> 184
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 103

ES 2 618 543 T3

Met Arg Arg Gly Pro Arg Ser Leu Arg Gly Arg Asp Ala Pro Ala Pro
1 5 10 15

Thr Pro Cys Val Pro Ala Glu Cys Phe Asp Leu Leu Val Arg His Cys
20 25 30

Val Ala Cys Gly Leu Leu Arg Thr Pro Arg Pro Lys Pro Ala Gly Ala
35 40 45

Ser Ser Pro Ala Pro Arg Thr Ala Leu Gln Pro Gln Glu Ser Val Gly
50 55 60

Ala Gly Ala Gly Glu Ala Ala Leu Pro Leu Pro Gly Leu Leu Phe Gly
65 70 75 80

Ala Pro Ala Leu Leu Gly Leu Ala Leu Val Leu Ala Leu Val Leu Val
85 90 95

Gly Leu Val Ser Trp Arg Arg Arg Gln Arg Arg Leu Arg Gly Ala Ser
100 105 110

Ser Ala Glu Ala Pro Asp Gly Asp Lys Asp Ala Pro Glu Pro Leu Asp
115 120 125

Lys Val Ile Ile Leu Ser Pro Gly Ile Ser Asp Ala Thr Ala Pro Ala
130 135 140

Trp Pro Pro Pro Gly Glu Asp Pro Gly Thr Thr Pro Pro Gly His Ser
145 150 155 160

Val Pro Val Pro Ala Thr Glu Leu Gly Ser Thr Glu Leu Val Thr Thr
165 170 175

Lys Thr Ala Gly Pro Glu Gln Gln
180

<210> 104

<211> 61

5 <212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<400> 104

ES 2 618 543 T3

Met Arg Arg Gly Pro Arg Ser Leu Arg Gly Arg Asp Ala Pro Ala Pro
1 5 10 15

Thr Pro Cys Val Pro Ala Glu Cys Phe Asp Leu Leu Val Arg His Cys
20 25 30

Val Ala Cys Gly Leu Leu Arg Thr Pro Arg Pro Lys Pro Ala Gly Ala
35 40 45

Ser Ser Pro Ala Pro Arg Thr Ala Leu Gln Pro Gln Glu
50 55 60

<210> 105

<211> 64

<212> PRT

<213> *Mus* sp.

<400> 105

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

Ser Val Pro Thr Gln Cys Asn Gln Thr Glu Cys Phe Asp Pro Leu Val
20 25 30

Arg Asn Cys Val Ser Cys Glu Leu Phe His Thr Pro Asp Thr Gly His
35 40 45

Thr Ser Ser Leu Glu Pro Gly Thr Ala Leu Gln Pro Gln Glu Gly Ser
50 55 60

<210> 106

<211> 314

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 106

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

Thr Gly Ala Arg Arg Leu Arg Val Arg Ser Gln Arg Ser Arg Asp Ser
20 25 30

ES 2 618 543 T3

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

ES 2 618 543 T3

Asn Tyr Lys Asn Thr Gln Pro Ile Met Asn Thr Asn Gly Ser Tyr Phe
260 265 270

Val Tyr Ser Lys Leu Asn Val Gln Lys Ser Asn Trp Glu Ala Gly Asn
275 280 285

Thr Phe Thr Cys Ser Val Leu His Glu Gly Leu His Asn His His Thr
290 295 300

Glu Lys Ser Leu Ser His Ser Pro Gly Lys
305 310

<210> 107

<211> 125

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 107

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

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

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

Ala Trp Val Leu Pro Ser Val Gly Phe Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Arg Val Cys Tyr Asn Arg Leu Gly Val Cys Ala Gly Gly Met
100 105 110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

120

125

<210> 108

<211> 107

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 108

```

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1           5           10           15
,
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Asp Ile Ala Thr Ser
          20           25           30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
          35           40           45

Phe Ala Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
          50           55           60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65           70           75           80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Gln Ile Ser Pro Pro
          85           90           95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
          100          105

```

5

<210> 109

<211> 107

<212> PRT

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

15

<400> 109

```

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Asp Ile Ser Ser Ser

```

ES 2 618 543 T3

20

25

30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Phe Ser Ala Ser Phe Leu Phe Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Glu Val Ser Pro Pro
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 110

<211> 107

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 110

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Asp Ile Ser Thr Ala
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Phe Ala Ala Ser Tyr Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Gln Ile Ser Pro Pro
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 111

<211> 107

<212> PRT

ES 2 618 543 T3

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

5

<400> 111

```

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Asp Ile Ser Ser Ala
                20           25           30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
          35           40           45

Phe Ala Ala Ser Tyr Leu Phe Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
          50           55           60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65           70           75           80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Gln Val Ser Pro Pro
          85           90           95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
          100          105

```

10

<210> 112

<211> 107

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 112

```

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

```

20

ES 2 618 543 T3

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Asp Ile Ser Ser Ala
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Phe Ala Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Gln Ile Ser Pro Pro
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 113
<211> 107
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 113

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Glu Ile Ala Thr Ala
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Phe Ala Ala Ser Tyr Leu Phe Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Gln Val Ala Pro Pro
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 114
<211> 107

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

5 <223> Construcción sintética

<400> 114

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Glu Ile Ala Thr Ala
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Phe Ala Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Glu Val Ser Pro Pro
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

10

<210> 115

<211> 107

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 115

20

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

ES 2 618 543 T3

```

1           5           10           15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ala Thr Ser
      20           25           30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
      35           40           45

Phe Ala Ala Ser Tyr Leu Phe Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
      50           55           60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
      65           70           75           80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Gln Val Ser Pro Pro
      85           90           95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
      100           105

```

<210> 116
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Construcción sintética

<400> 116

```

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Glu Ile Ser Thr Ala
      20           25           30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
      35           40           45

Phe Ser Ala Ser Tyr Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
      50           55           60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
      65           70           75           80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Glu Val Ser Pro Pro
      85           90           95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
      100           105

```

<210> 117

<211> 107
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <223> Construcción sintética

<400> 117

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Asp Ile Ser Ser Ala
 20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45

Phe Ser Ala Ser Phe Leu Phe Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Gln Val Ser Pro Pro
 85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

10

<210> 118
 <211> 107
 <212> PRT
 15 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Construcción sintética

20 <400> 118

ES 2 618 543 T3

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Ala Thr Ala
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Phe Ala Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Gln Ile Ser Pro Pro
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 119

<211> 107

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> Construcción sintética

<400> 119

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Glu Ile Ala Thr Ser
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Phe Ser Ala Ser Tyr Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Gln Val Ser Pro Pro
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 120
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 5
 <220>
 <223> Construcción sintética
 10
 <400> 120
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Asp Ile Ser Thr Ala
 20 25 30
 Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Ala Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Gln Ile Ser Pro Pro
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105
 15
 <210> 121
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Construcción sintética
 20
 <400> 121

ES 2 618 543 T3

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Asp Val Ser Ser Ala
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Phe Ala Ala Ser Tyr Leu Phe Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ser Gln Val Ser Pro Pro
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 122
<211> 8
<212> PRT
<213> *Mus* sp.

<400> 122

Gln Val Arg Arg Ala Leu Asp Tyr
1 5

<210> 123
<211> 20
<212> PRT
<213> *Mus* sp.

<400> 123

Gly Phe Ile Arg Asp Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Asn Pro
1 5 10 15

Ser Val Lys Gly
20

<210> 124
<211> 10
<212> PRT
<213> *Mus* sp.

<400> 124

Gly Phe Thr Val Thr Ala Tyr Tyr Met Ser
1 5 10

<210> 125
<211> 16

<212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 5 <223> Péptido sintético
 <400> 125
 Arg Val Cys Tyr Asn Arg Leu Gly Val Cys Ala Gly Gly Met Asp Tyr
 1 5 10 15
 10 <210> 126
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 15 <220>
 <223> Péptido sintético
 <400> 126
 20 Gly Phe Thr Ile Ser Ser Asn Ser Ile His
 1 5 10
 <210> 127
 <211> 11
 25 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Péptido sintético
 30 <400> 127
 Ala Trp Ile Thr Pro Ser Asp Gly Asn Thr Asp
 1 5 10
 35 <210> 128
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 40 <220>
 <223> Péptido sintético
 <400> 128
 Gly Phe Thr Ile Ser Ser Ser Ser Ile His
 1 5 10
 45 <210> 129
 <211> 11
 <212> PRT
 50 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Péptido sintético
 55 <400> 129

ES 2 618 543 T3

Ala Trp Val Leu Pro Ser Val Gly Phe Thr Asp
1 5 10

<210> 130
<211> 11
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 130

Arg Ala Ser Glu Asp Ile Ser Thr Ala Val Ala
1 5 10

<210> 131
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 131

Tyr Ala Ala Ser Phe Leu Tyr Ser
1 5

<210> 132
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 132

Gln Gln Ser Gln Ile Ser Pro Pro Thr
1 5

<210> 133
<211> 17
<212> PRT
<213> *Mus* sp.

<400> 133

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser Ser Asn Gln Asn Asn Tyr Leu
1 5 10 15

Ala

<210> 134
<211> 7
<212> PRT
<213> *Mus* sp.

<400> 134

ES 2 618 543 T3

Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser
1 5

5 <210> 135
<211> 9
<212> PRT
<213> *Mus* sp.

<400> 135

Gln Gln Tyr Tyr Thr Tyr Pro Tyr Thr
1 5

10

15 <210> 136
<211> 107
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> secuencia sintetizada

20 <400> 136

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Pro Leu Ile Tyr
35 40 45

Ala Pro Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu
65 70 75 80

Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Phe Asn Pro Pro Thr
85 90 95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105

25 <210> 137
<211> 122
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

30 <220>
<223> secuencia sintetizada

<400> 137

ES 2 618 543 T3

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

- 5 <210> 138
 <211> 213
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 10 <220>
 <223> secuencia sintetizada
 <400> 138

ES 2 618 543 T3

```

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met
          20           25           30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Pro Leu Ile Tyr
          35           40           45

Ala Pro Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
          50           55           60

Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu
65           70           75           80

Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Phe Asn Pro Pro Thr
          85           90           95

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

Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
          115           120           125

Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
          130           135          140

Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
145           150           155           160

Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
          165           170           175

Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
          180           185           190

Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
          195           200           205

Asn Arg Gly Glu Cys
          210

```

<210> 139

<211> 451

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia sintetizada

<400> 139

ES 2 618 543 T3

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

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

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

Gly Ala Ile Tyr Pro Gly Asn Gly Asp Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Val Val Tyr Tyr Ser Asn Ser Tyr Trp Tyr Phe Asp Val Trp
 100 105 110

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

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

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

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

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

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

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
 210 215 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
 225 230 235 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
 245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
 260 265 270

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
 275 280 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
 290 295 300

ES 2 618 543 T3

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305 310 315 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
325 330 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
340 345 350

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

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385 390 395 400

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

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
435 440 445

Ser Pro Gly
450

<210> 140

<211> 213

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia sintetizada

<400> 140

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Leu

ES 2 618 543 T3

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

<210> 141

<211> 451

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia sintetizada

<400> 141

ES 2 618 543 T3

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

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

<210> 142
 <211> 451

ES 2 618 543 T3

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

5 <223> secuencia sintetizada

<400> 142

```

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

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

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

Gly Ala Ile Tyr Pro Gly Asn Gly Ala Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
50           55           60

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

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

Ala Arg Val Val Tyr Tyr Ser Ala Ser Tyr Trp Tyr Phe Asp Val Trp
                100           105           110

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

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

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

```

ES 2 618 543 T3

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

ES 2 618 543 T3

370

375

380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385 390 395 400

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

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
435 440 445

Ser Pro Gly
450

<210> 143

<211> 451

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia sintetizada

<400> 143

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

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

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

Gly Ala Ile Tyr Pro Gly Asn Gly Ala Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

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

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

ES 2 618 543 T3

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

ES 2 618 543 T3

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Ala Ala Leu Pro Ala Pro
325 330 335

Ile Ala Ala Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
340 345 350

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

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385 390 395 400

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

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
435 440 445

Ser Pro Gly
450

<210> 144

<211> 107

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia sintetizada

<400> 144

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

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

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Pro Leu Ile Tyr

ES 2 618 543 T3

35

40

45

Ala Pro Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu
65 70 75 80

Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ala Phe Asn Pro Pro Thr
85 90 95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 145

<211> 122

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia sintetizada

<400> 145

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

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

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

Gly Ala Ile Tyr Pro Gly Asn Gly Ala Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Val Val Tyr Tyr Ser Ala Ser Tyr Trp Tyr Phe Asp Val Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 146

<211> 122

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia sintetizada

5

<400> 146

```

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

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

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

Gly Ala Ile Tyr Pro Gly Asn Gly Ala Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
50           55           60

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

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

Ala Arg Val Val Tyr Tyr Ser Tyr Arg Tyr Trp Tyr Phe Asp Val Trp
100          105          110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115          120

```

10

REIVINDICACIONES

1. Un método de control de los niveles de linfocitos B en un sujeto durante el tratamiento con un agente de agotamiento de los linfocitos B, que comprende las etapas de:

- (a) determinar el nivel de BAFF en suero de una muestra obtenida del sujeto en un primer punto temporal;
- (b) determinar el nivel de BAFF en suero de una muestra obtenida del sujeto en un segundo punto temporal; y
- (c) comparar el nivel de BAFF en suero de las muestras tomadas en el primer punto temporal y en el segundo punto temporal,

en donde un aumento en el nivel de BAFF en suero desde el primer punto temporal hasta el segundo punto temporal es indicativo de una reducción del nivel de los linfocitos B en el sujeto y una reducción del nivel de BAFF en suero desde el primer punto temporal hasta el segundo punto temporal es indicativo de un aumento en el nivel de los linfocitos B en el sujeto, y en donde el agente de agotamiento de los linfocitos B es un anticuerpo.

2. Un agente de agotamiento de los linfocitos B para su uso en un método de tratamiento de un sujeto mamífero que padece un trastorno inmunológico, en donde el tratamiento comprende las etapas de: (1) administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de dicho agente de agotamiento de linfocitos B; (2) determinar el nivel de BAFF en suero de una muestra del sujeto en un primer punto temporal; (3) determinar el nivel de BAFF en suero de una muestra del sujeto en un segundo punto temporal; (4) comparar el nivel de BAFF en suero de las muestras tomadas en el primer punto temporal y el segundo punto temporal, en donde un aumento en el nivel de BAFF en suero desde el primer punto temporal hasta el segundo punto temporal es indicativo de una reducción del nivel de linfocitos B, y una reducción del nivel de BAFF en suero desde el primer punto temporal hasta el segundo punto temporal es indicativo de un aumento del nivel de linfocitos B en el sujeto; y (5) administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz del mismo dicho agente de agotamiento de linfocitos B cuando los niveles de BAFF en suero disminuyen desde el primer punto temporal hasta el segundo punto temporal, siendo la administración antes o durante la recuperación de los linfocitos B tisulares que se produce antes de la recuperación de los linfocitos B de sangre periférica, y en donde el agente de agotamiento de los linfocitos B es un anticuerpo.

3. Un agente de agotamiento de los linfocitos B para su uso en un método de terapia de mantenimiento para un sujeto mamífero previamente tratado con un agente de agotamiento de linfocitos B por un trastorno inmunológico, en donde el tratamiento comprende las etapas de: (1) determinar el nivel de BAFF en suero de una muestra del sujeto en un primer punto temporal; (2) determinar el nivel de BAFF en suero de una muestra del sujeto en un segundo punto temporal; (3) comparar el nivel de BAFF en suero de las muestras tomadas en el primer punto temporal y el segundo punto temporal, en donde un aumento en el nivel de BAFF en suero desde el primer punto temporal hasta el segundo punto temporal es indicativo de una reducción del nivel de linfocitos B en el sujeto y una reducción del nivel de BAFF en suero desde el primer punto temporal hasta el segundo punto temporal es indicativo de un aumento del nivel de linfocitos B en el sujeto; y (4) administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz del agente de agotamiento de linfocitos B cuando los niveles de BAFF en suero disminuyen desde el primer punto temporal hasta el segundo punto temporal, siendo la administración antes o durante la recuperación de los linfocitos B tisulares que se produce antes de la recuperación de los linfocitos B de sangre periférica y en donde el agente de agotamiento de los linfocitos B es un anticuerpo.

4. El método de acuerdo con la reivindicación 1 o el agente de agotamiento de linfocitos B para su uso de acuerdo con las reivindicaciones 2 o 3, en donde el agente de agotamiento de linfocitos B es un anticuerpo que:

- (a) se une a un antígeno de superficie de linfocito B; o
- (b) no es un antagonista de BAFF que se une a BAFF.

5. El método o el agente de agotamiento de linfocitos B para su uso de acuerdo con la reivindicación 4(a), en los que el antígeno de superficie de linfocito B se selecciona del grupo que consiste en CD10, CD19, CD20, CD21, CD22, CD23, CD24, CD37, CD40, CD52, D53, CD72, CD73, CD74, CDw75, CDw76, CD77, CDw78, CD79a, CD79b, CD80, CD81, CD82, CD83, CDw84, CD85, CD86, CD180 (RP105), FcRH2 (IRTA4), CD79A, C79B, CR2, CCR6, CD72, P2X5, HLA-DOB, CXCR5 (BLR1), FCER2, BR3 (BAFF-R), TACI, BTLA, NAG14 (LRR4), SLGC16270 (LOC283663), FcRH1 (IRTA5), FcRH5 (IRTA2), ATWD578 (MGC15619), FcRH3 (IRTA3), FcRH4 (IRTA1), FcRH6 (LOC343413) y BCMA (TNFRSF17), HLA-DO, HLA-Dr10 y MHC de Clase II.

6. El método o el agente de agotamiento de linfocitos B para su uso de acuerdo con la reivindicación 5, en donde el agente de agotamiento de linfocitos B es:

- (a) un anticuerpo anti-CD20,
- (b) un anticuerpo anti-BR3,
- (c) un anticuerpo anti-CD22 o
- (d) un anticuerpo anti-CD52.

7. El método o el agente de agotamiento de linfocitos B para su uso de acuerdo con la reivindicación 6(a), en los que

el anticuerpo anti-CD20 es rituximab o 2H7.

8. El agente de agotamiento de linfocitos B para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 7, en donde el trastorno inmunológico es una enfermedad de inmunodeficiencia.
- 5 9. El agente de agotamiento de linfocitos B para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 7, en donde: (a) el trastorno inmunológico es una enfermedad autoinmune seleccionada del grupo que consiste en artritis reumatoide, artritis reumatoide juvenil, lupus eritematoso sistémico (LES), enfermedad de Wegener, enfermedad inflamatoria del intestino, púrpura trombocitopénica idiopática (ITP), púrpura trombocitopénica trombótica (TTP), trombocitopenia autoinmune, esclerosis múltiple, psoriasis, nefropatía de IgA, polineuropatías de IgM, miastenia grave, vasculitis, diabetes mellitus, síndrome de Reynaud, síndrome de Sjorgen, glomerulonefritis, neuromielitis óptica (NMO) y neuropatía de IgG; o (b) el trastorno inmunológico es un cáncer seleccionado del grupo que consiste en linfoma de linfocitos B, leucemia de linfocitos B y mieloma múltiple.
- 10 10. El agente de agotamiento de linfocitos B para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 7, en donde los linfocitos B expresan CD 19 o CD20.
11. El agente de agotamiento de linfocitos B para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 10, en donde el sujeto es un ser humano.
- 20 12. El agente de agotamiento de linfocitos B para su uso de acuerdo con la reivindicación 2, en donde el agente terapéutico diferente se selecciona del grupo que consiste en un agente de agotamiento de linfocitos T, un agente inmunosupresor, un DMARD y una vacuna.
- 25 13. El método o el agente de agotamiento de linfocitos B para su uso de acuerdo con las reivindicaciones 6(a) o 7, en donde el aumento en el nivel de BAFF en suero es de 4 a 10 veces.
14. El método o el agente de agotamiento de linfocitos B para su uso de acuerdo con la reivindicación 6(b), en donde el aumento en el nivel de BAFF en suero es de 10 a 20 veces.
- 30 15. El agente de agotamiento de linfocitos B para su uso de acuerdo con la reivindicación 3, en donde el sujeto está en remisión de un trastorno autoinmune o una neoplasia de linfocitos B y una reducción en el nivel de BAFF en suero es indicativo de un aumento en el nivel de los linfocitos B en dicho sujeto.
- 35 16. El método de la reivindicación 1 o el agente de agotamiento de linfocitos B para su uso de acuerdo con las reivindicaciones 2 o 3, en donde dicho nivel de BAFF en suero se determina usando un inmunoensayo.
17. El método de la reivindicación 1 o el agente de agotamiento de linfocitos B para su uso de acuerdo con las reivindicaciones 2 o 3, en donde el nivel de BAFF en suero es indicativo del nivel de linfocitos B en tejido.
- 40 18. El método de la reivindicación 1 o el agente de agotamiento de linfocitos B para su uso de acuerdo con las reivindicaciones 2 o 3, en donde el agente de agotamiento de linfocitos B es un anticuerpo humanizado.

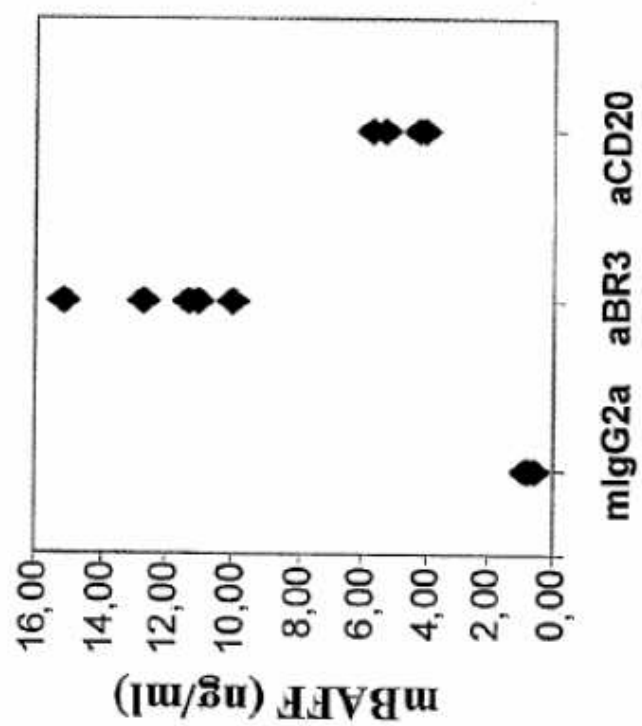


FIG.1

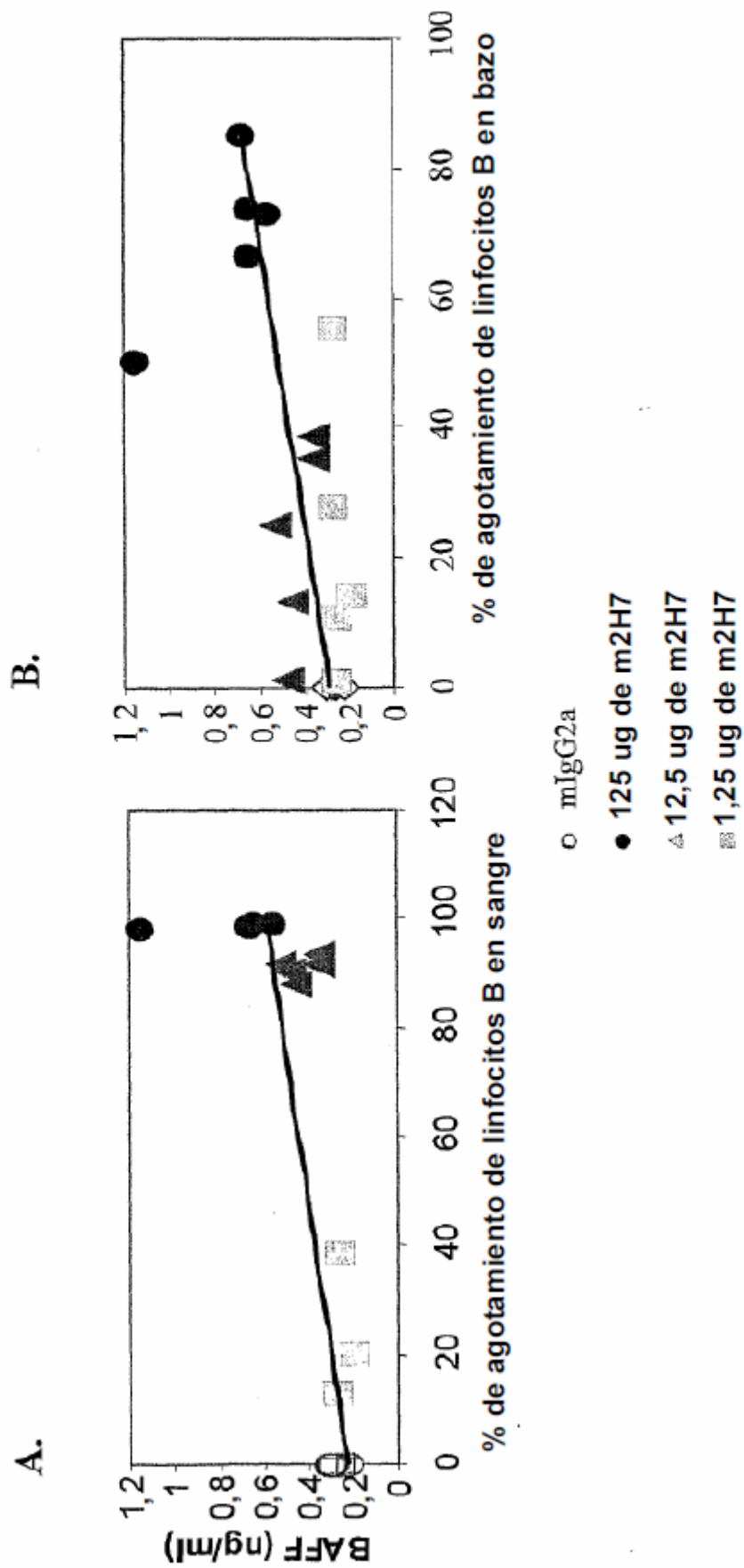


FIG.2

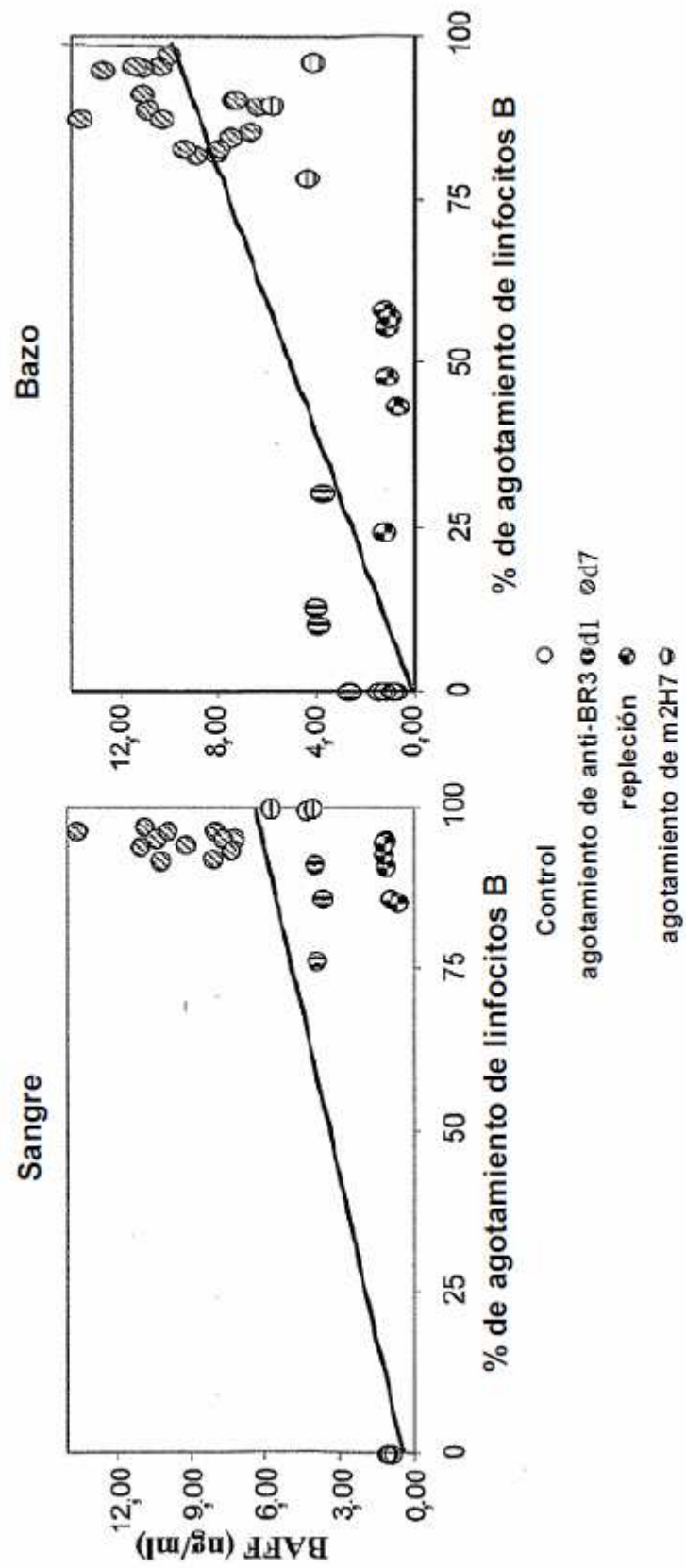


FIG.3

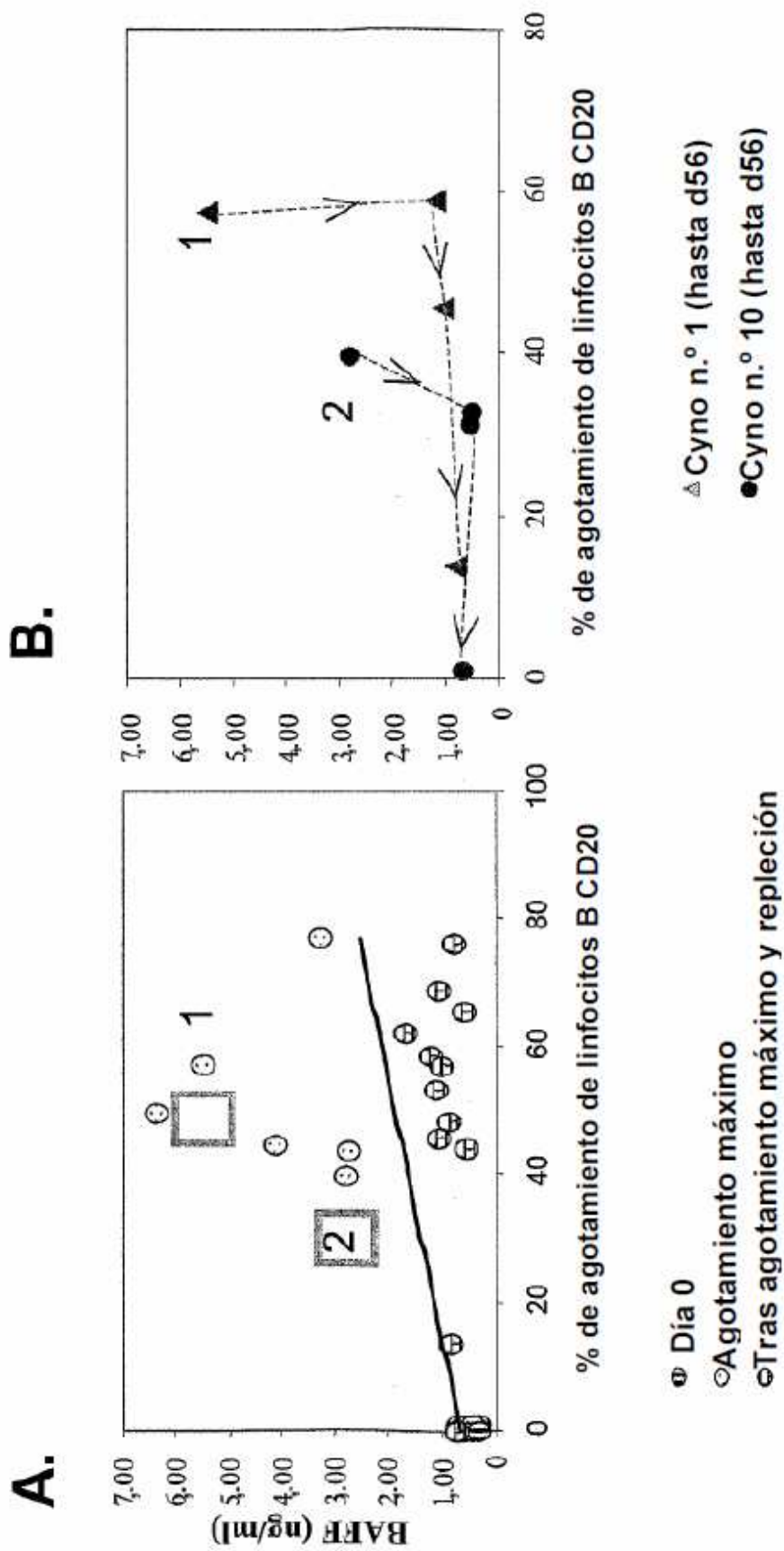


FIG.4

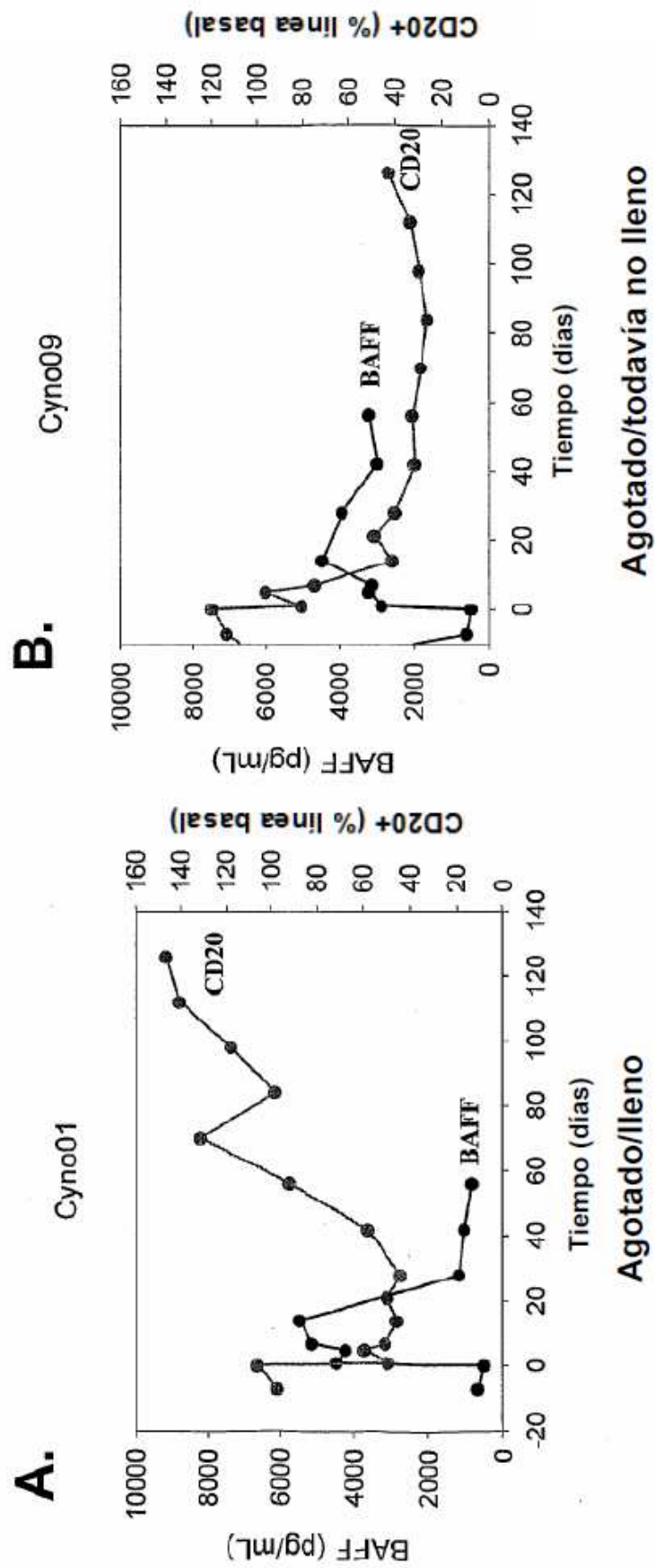


FIG.5

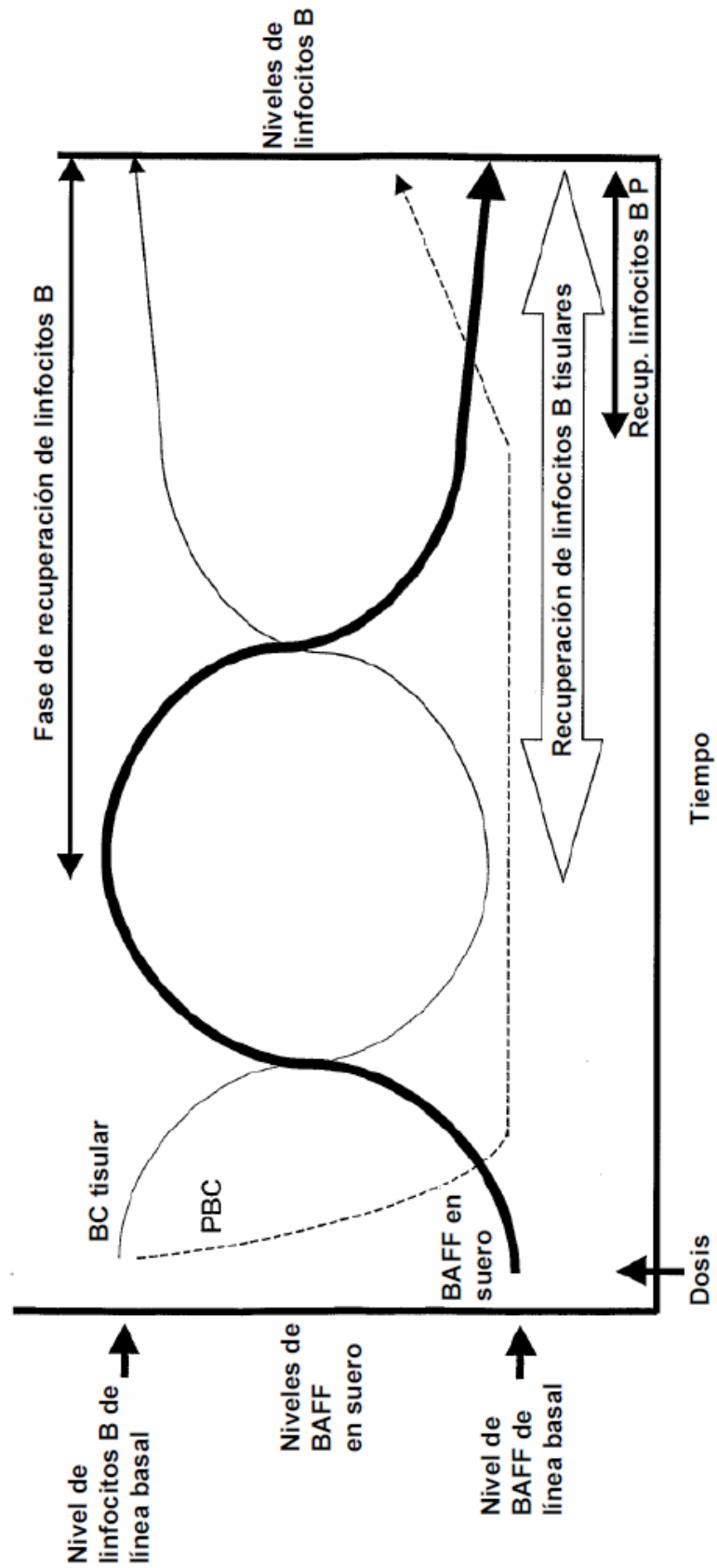


FIG.6