

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 647 466**

51 Int. Cl.:

C07K 16/28 (2006.01)

C07K 16/30 (2006.01)

C07K 16/32 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **12.11.2010 E 15154165 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.10.2017 EP 2896632**

54 Título: **Materiales y métodos para tratar o prevenir las enfermedades asociadas a HER-3**

30 Prioridad:

13.11.2009 US 261149 P

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

21.12.2017

73 Titular/es:

DAIICHI SANKYO EUROPE GMBH (50.0%)

Zielstattstr. 48

81379 München, DE y

AMGEN INC. (50.0%)

72 Inventor/es:

HETTMANN, THORE;

FREEMAN, DANIEL, J. y

RADINSKY, ROBERT

74 Agente/Representante:

UNGRÍA LÓPEZ, Javier

ES 2 647 466 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

Materiales y métodos para tratar o prevenir las enfermedades asociadas a HER-3

5 **Antecedentes****1. Campo técnico**

10 Este documento se refiere a materiales y métodos para tratar sujetos que tienen cáncer de pulmón administrando un primer agente que se une a HER-3, en combinación con Erlotinib.

2. Antecedentes

15 HER-3, conocido también como ErbB3, es un receptor de la proteína tirosina quinasa que pertenece a la familia de receptores del factor de crecimiento epidérmico (EGF-R, conocido también como HER) de receptores de las proteínas tirosina quinasa, que incluye también HER-1 (conocido también como EGF-R o erbB), HER-2 (conocido también como erbB2), y HER-4 (conocido también como erbB4) (Plowman et al. (1990) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:4905-4909; Kraus et al. (1989) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:9193-9197; y Kraus et al. (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:2900-2904). De la misma forma que el receptor prototípico del factor de crecimiento epidérmico, el receptor HER-3 transmembrana consiste en un dominio extracelular de unión a ligando (ECD), un dominio de dimerización en el ECD, un dominio transmembrana (TMD), un dominio intracelular de la proteína tirosina quinasa (TKD), y un dominio de fosforilación en el extremo C.

25 El ligando de HER-3, conocido como heregulina (HRG), se une al dominio extracelular de HER-3 y activa la señalización mediada por receptor promoviendo la dimerización con otros miembros de la familia de receptores del factor de crecimiento epidérmico humano (HER), posterior a la transfosforilación del dominio HER-3 intracelular, y la activación de las cascadas de señalización posteriores. La formación de dímeros con múltiples miembros de la familia HER expande el potencial de señalización de HER-3 y esto es un medio para la diversificación de la señal así como la amplificación de la señal.

30 La solicitud internacional WO 2007/077028 divulga anticuerpos dirigidos contra HER-3 que incluyen el anticuerpo U1-59 ilustrativo. Además, se sugiere la administración simultánea del anticuerpo específico erbitux dirigido contra EGFR. El documento WO 2008/100624 divulga anticuerpos dirigidos contra HER-3 y el uso de los mismos en el tratamiento de enfermedades cancerosas. Además, se divulgan inmunoconjugados de los anticuerpos descritos con principios activos adicionales.

35 **Sumario**

40 Este documento se refiere a combinaciones de un primer y un segundo agente para su uso en el tratamiento o la prevención del cáncer de pulmón, administrando un agente que se une a HER-3, en combinación con un segundo agente que se une a y/o inhibe otro miembro de la familia HER. El segundo agente es Erlotinib. El primer agente es una proteína de unión a antígeno que se une a HER-3 y comprende una secuencia de aminoácidos de la cadena pesada que comprende una CDRH11 como se muestra en la SEQ ID 256; una CDRH2 como se muestra en la SEQ ID NO 282; y una CDRH3 como se muestra en la SEQ ID NO 315; y una secuencia de aminoácidos de la cadena ligera que comprende una CDRL1 como se muestra en la SEQ ID NO 340; una CDRL2 como se muestra en la SEQ ID NO 344; y una CDRL3 como se muestra en la SEQ ID NO 387. Se proporcionan otras proteínas de unión a Her3 solo como ejemplos comparativos.

50 De acuerdo con la invención, el primer agente puede ser una proteína de unión a antígeno que se une a HER-3 y comprende una secuencia de aminoácidos de la cadena pesada como se muestra en la SEQ ID NO 70. La proteína de unión a antígeno puede incluir una secuencia de aminoácidos de la cadena ligera como se muestra en la SEQ ID NO 72.

55 La proteína de unión a antígeno se puede dirigir contra el dominio extracelular de HER-3. La unión de la proteína de unión a antígeno con HER-3 puede reducir la transducción de la señal mediada por HER-3, reducir la fosforilación de HER-3, reducir la proliferación celular, reducir la migración celular, y/o aumentar la regulación por defecto de HER-3.

60 La proteína de unión a antígeno que se une a HER-3 puede ser un anticuerpo. El anticuerpo puede ser un anticuerpo monoclonal, un anticuerpo policlonal, un anticuerpo recombinante, un anticuerpo humanizado, un anticuerpo humano, un anticuerpo quimérico, un anticuerpo multiespecífico o un fragmento de unión a antígeno del mismo (por ejemplo, un fragmento Fab, un fragmento Fab', un fragmento F(ab')₂, un fragmento Fv, un diacuerpo, o una molécula de anticuerpos monocatenaria). El anticuerpo puede ser del tipo IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4.

65 El primer agente puede ser una proteína de unión a antígeno que se une a HER-3, y la proteína de unión a antígeno puede acoplarse a un grupo efector. El grupo efector puede ser un radioisótopo o un radionucleido, una toxina, o un grupo terapéutico o un grupo quimioterapéutico (por ejemplo, un grupo terapéutico o quimioterapéutico seleccionado entre el grupo que consiste en caliqueamicina, auristatina-PE, geldanamicina, maitansina y los derivados de las

mismas).

El segundo agente es erlotinib. Se proporcionan otros agentes como ejemplos comparativos.

5 Los métodos descritos en el presente documento pueden incluir opcionalmente administrar un tercer o agente terapéutico adicional y/o tratamiento de radiación. El tercer o agente terapéutico adicional puede ser un agente antineoplásico (por ejemplo, un anticuerpo antitumoral o un agente quimioterapéutico, tal como capecitabina, antraciclina, doxorubicina, ciclofosfamida, paclitaxel, docetaxel, cisplatino, gemcitabina, o carboplatino).

10 El primer agente y el segundo agente pueden administrarse mediante administración intravenosa, subcutánea, intramuscular u oral. De acuerdo con la invención, la enfermedad es cáncer de pulmón. Otras enfermedades hipoproliferativas (por ejemplo, una enfermedad seleccionada entre el grupo que consiste en cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer de próstata, cáncer de colon, cáncer renal, cáncer de páncreas, carcinoma epidermoide, fibrosarcoma, melanoma, carcinoma nasofaríngeo, y carcinoma escamocelular) se presentan como ejemplos comparativos.

15 Los métodos del presente documento pueden incluir administrar el primer agente a una dosis de aproximadamente 1 a aproximadamente 20 mg/kg de peso corporal, al menos una vez cada 6 semanas. Los métodos pueden incluir administrar el segundo agente a una dosis de aproximadamente 1 a aproximadamente 20 mg/kg de peso corporal, al menos una vez cada 6 semanas. Los métodos pueden incluir además, antes de la administración, utilizar un método que comprende el análisis de un marcador predictivo para seleccionar un sujeto que tiene una enfermedad asociada con HER-3. Los métodos pueden incluir además después de la administración, vigilar el resultado terapéutico.

20 A menos que se definan de otro modo, todos los términos técnicos y científicos utilizados en el presente documento tienen el mismo significado que el que entiende comúnmente una persona normalmente experta en la técnica a la cual pertenece la presente invención. Aunque se pueden usar métodos y materiales similares o equivalentes a los descritos en el presente documento para llevar a la práctica la presente invención, se describen a continuación métodos y materiales adecuados. En caso de conflicto, prevalecerá la presente memoria descriptiva, incluyendo las definiciones. Además, los materiales, métodos, y ejemplos son solo ilustrativos y no se pretende que sean limitantes.

25 Los detalles de una o más realizaciones de la invención se muestran en los dibujos acompañantes y en la descripción a continuación. Otras características, objetos y ventajas de la invención serán evidentes a partir de la descripción y los dibujos, y a partir de las reivindicaciones.

35 Breve descripción de los dibujos

La FIG. 1 es una gráfica que representa los efectos de un anticuerpo humano dirigido contra HER-3 y panitumumab, tanto solo como combinado, sobre el crecimiento de un xenoinjerto de tumor (Calu-3) de un cáncer de pulmón no microcítico (NSCLC). (Ejemplo comparativo)

40 La FIG.2 es una gráfica que representa los efectos de un anticuerpo humano dirigido contra HER-3 y erlotinib, tanto solo como combinado, sobre el crecimiento de Calu-3.

La FIG.3 es una gráfica que representa los efectos de un anticuerpo humano dirigido contra HER-3, tanto solo como combinado con c2C4 (un inhibidor de la dimerización de HER2), o trastuzumab sobre el crecimiento independiente del anclaje basal de células SkBr-3 de cáncer de mama. (Ejemplo comparativo)

45 La FIG. 4 es una gráfica que representa los efectos de un anticuerpo humano dirigido contra HER-3, tanto solo como combinado con c2C4, trastuzumab, o cetuximab, sobre el crecimiento independiente del anclaje estimulado por HRG de las células SkBr-3 de cáncer de mama. (Ejemplo comparativo)

La FIG. 5 es una gráfica que representa los efectos de un anticuerpo humano dirigido contra HER-3, tanto solo como combinado con c2C4), trastuzumab, o cetuximab, sobre el crecimiento independiente del anclaje basal de células MDA-MB-435 de cáncer de ovario. (Ejemplo comparativo)

50 Las FIGS. 6A-6D son una serie de gráficas que representan los efectos de un anticuerpo humano dirigido contra HER-3, tanto solo como combinado con trastuzumab (FIG. 6A), lapatinib (FIG. 6B), gemcitabina (FIG. 6C), o cisplatino (FIG. 6D), sobre la proliferación de células MDA-MB-175VII de cáncer de mama. (Ejemplo comparativo)

55 La FIG. 7 es una gráfica que representa los efectos de un anticuerpo humano dirigido contra HER-3, tanto solo como combinado con c2C4, trastuzumab, o lapatinib, sobre la proliferación estimulada por HRG de las células ZR-75-30 de cáncer de mama. (Ejemplo comparativo)

La FIG. 8 es una gráfica que representa los efectos de un anticuerpo humano dirigido contra HER-3, tanto solo como combinado con c2C4, trastuzumab, o lapatinib, sobre la proliferación estimulada por HRG de las células BT474 de cáncer de mama. (Ejemplo comparativo)

60 La FIG. 9 es una gráfica que representa los efectos de un anticuerpo humano dirigido contra HER-3, tanto solo como combinado con cetuximab, c2C4, o trastuzumab, sobre la proliferación estimulada por HRG de células DLD-1 de cáncer de colon. (Ejemplo comparativo)

65 La FIG. 10 es una gráfica que representa los efectos de un anticuerpo humano dirigido contra HER-3, tanto solo como combinado con c2C4 o trastuzumab, o lapatinib sobre la proliferación estimulada por HRG de células HCC-1569 de cáncer de mama. (Ejemplo comparativo)

La FIG. 11 es una gráfica que representa los efectos de un anticuerpo humano dirigido contra HER-3, tanto solo como combinado con 2C4, trastuzumab, o lapatinib, sobre la proliferación estimulada por HRG de células SkBr-3 de cáncer de mama. (Ejemplo comparativo)

La FIG. 12 es una gráfica que representa los efectos de un anticuerpo humano dirigido contra HER-3, tanto solo como combinado con panitumumab sobre la proliferación de células FaDu de cáncer de cabeza y cuello. (Ejemplo comparativo)

La FIG. 13 es una fotografía de una transferencia Western que muestra los efectos de un anticuerpo humano dirigido contra HER-3, tanto solo como combinado con cetuximab, c2C4, o trastuzumab, sobre la fosforilación de Her-3 (panel superior), Akt (panel intermedio), y ERK (panel inferior) en células MDA-MB-175VII de cáncer de mama. (Ejemplo comparativo)

La FIG. 14 es una fotografía de una transferencia Western que muestra los efectos de un anticuerpo humano dirigido contra HER-3, tanto solo como combinado con cetuximab, c2C4, trastuzumab, o lapatinib, sobre la fosforilación de Her-3 (panel superior), Akt (panel intermedio), y ERK (panel inferior) en células SkBr-3 estimuladas por HRG. (Ejemplo comparativo)

La FIG. 15 es una fotografía de una transferencia Western que muestra los efectos de un anticuerpo humano dirigido contra HER-3, tanto solo como combinado con cetuximab, pertuzumab (c2C4), o trastuzumab, sobre la fosforilación de HER-3 (panel superior) o Akt (panel inferior) en células Ls174T de cáncer de colon estimuladas por HRG. (Ejemplo comparativo)

La FIG. 16 es una fotografía de una transferencia Western que muestra los efectos de un anticuerpo humano dirigido contra HER-3, tanto solo como combinado con cetuximab, c2C4, o trastuzumab, sobre la fosforilación de Her-3 (panel superior), Akt (panel intermedio), y ERK (panel inferior) en células HCC 1569 estimuladas por HRG. (Ejemplo comparativo)

La FIG. 17 es una fotografía de una transferencia Western que muestra los efectos de un anticuerpo humano dirigido contra HER-3, tanto solo como combinado con panitumumab, sobre la fosforilación de Akt, PGFR, HER-2, HER-3, HER-4, y ERK en células A549 epiteliales alveolares. Banda 1, IgG del control; banda 2, panitumumab, solo; banda 3, U1-59, solo; banda 4, U1-59, en combinación con panitumumab. Se usó tubulina como un control para una carga igual. (Ejemplo comparativo)

La FIG. 18 es una fotografía de una transferencia Western que muestra los efectos de un anticuerpo humano dirigido contra HER-3, tanto solo como combinado con panitumumab o lapatinib, sobre la fosforilación de HER-3, Akt, HER-2, ERK, y EGF-R en células Calu3 de NSCLC. Banda 1, IgG del control; banda 2, panitumumab solo; banda 3, U1-59 solo; banda 4, lapatinib solo; banda 5, U1-59 combinado con panitumumab; banda 6, U1-59 combinado con lapatinib. (Ejemplo comparativo)

La FIG. 19 es una gráfica que representa los efectos de un anticuerpo humano dirigido contra HER-3 y lapatinib, tanto solo como combinado, sobre el crecimiento de un xenoinjerto de tumor de cáncer de mama (HCC-1569). (Ejemplo comparativo)

La FIG. 20 muestra que el tratamiento de las células A549 de NSCLC con U1-59 inhibe la fosforilación de HER3 y reduce la reactivación tras el tratamiento con gefitinib. Las células A549 se trataron con gefitinib, U1-59 o ambos, y se evaluó la fosforilación de HER3 mediante análisis ELISA. El tratamiento con gefitinib durante 1 hora dio como resultado la inhibición parcial de la fosforilación de HER, que se invirtió para controlar los niveles después de 24 horas. Por el contrario, el tratamiento con U1-59 condujo a una inhibición mayor de la fosforilación de HER que continuó después de 24 horas. El tratamiento combinado con ambos agentes evitó la inversión de la inhibición observada después de 24 horas en células tratadas solo con gefitinib. Los experimentos se llevaron a cabo en pocillos triplicados y se repitieron al menos 2 veces. Los resultados se expresaron como promedio \pm SEM. (Ejemplo comparativo)

Descripción detallada

Los encabezados de sección utilizados en el presente documento tienen fines organizativos solamente, y no deben considerarse como limitantes de la materia sujeto descrita.

Salvo que se defina de otra forma en el presente documento, los términos científicos y términos utilizados vinculados con la presente solicitud deberán tener los significados que entienden comúnmente las personas normalmente expertas en la técnica. Además, salvo que se requiera de otra forma por el contexto, los términos singulares deberán incluir las formas plurales y los términos plurales deberán incluir el singular.

En general, las nomenclaturas usadas vinculadas con, y las técnicas de, cultivo celular y cultivo de tejidos, biología molecular, inmunología, microbiología, genética y química e hibridación de proteínas y de ácidos nucleicos descritas en el presente documento son aquellas bien conocidas y comúnmente utilizadas en la técnica. Los métodos y técnicas de la presente solicitud se llevan a cabo generalmente de acuerdo con los métodos convencionales bien conocidos en la técnica y según se describen en diversas referencias generales y más específicas que se citan y describen en la totalidad de la presente memoria descriptiva salvo que se indique otra cosa. Véase, por ejemplo, Sambrook y col., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 3^a ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (2001), Ausubel et al., *Current Protocols in Molecular Biology*, Greene Publishing Associates (1992), y Harlow y Lane *Antibodies: A Laboratory Manual* Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1990). Las reacciones enzimáticas y las técnicas de purificación se llevan a cabo de acuerdo con las especificaciones del fabricante, como comúnmente se realizan en la técnica o como se describen en el presente

documento.

La terminología utilizada vinculada con, y los procedimientos de laboratorio y las técnicas de, la química analítica, la química orgánica sintética, y la química médica y farmacéutica descritas en el presente documento son aquellas bien conocidas y comúnmente utilizadas en la materia. Se pueden utilizar técnicas normalizadas para las síntesis químicas, análisis químicos, preparaciones farmacéuticas, formulaciones, y administración, y tratamiento de pacientes.

Debe entenderse que la presente invención no está limitada a la metodología, protocolos, y reactivos concretos, etc., descritos en el presente documento y como tal puede variar. La terminología utilizada en el presente documento tiene como propósito únicamente describir realizaciones particulares, y no se pretende que limite el alcance de lo divulgado, que está definido únicamente por las reivindicaciones.

Excepto en los ejemplos operativos, o donde se indique lo contrario, todos los números que expresan cantidades de ingredientes o condiciones de reacción utilizados en el presente documento deben entenderse como modificados en todos los casos por el término "aproximadamente". El término "aproximadamente" cuando se usa vinculado a porcentajes puede significar +/- 0,1%.

1. Panorama general

Este documento describe materiales y métodos relacionados con el tratamiento o la prevención de enfermedades asociadas con HER-3, utilizando una combinación de un primer agente que se une a HER-3 y un segundo agente que se une a/o inhibe la actividad de otros miembros de la familia HER. La materia sujeta de la invención es un primer agente y un segundo agente, donde dicho primer agente es una proteína de unión a antígeno que se une a HER-3 y comprende: una secuencia de aminoácidos de la cadena pesada que comprende una CDRH1 como se muestra en la SEQ ID NO: 256; una CDRH2 como se muestra en la SEQ ID NO: 282; una CDRH3 como se muestra en la SEQ ID NO: 315; y una secuencia de aminoácidos de la cadena ligera que comprende una CDRL1 como se muestra en la SEQ ID NO: 340; una CDRL2 como se muestra en la SEQ ID NO: 344; una CDRL3 como se muestra en la SEQ ID NO: 387, y donde el segundo agente es Erlotinib, para uso en el tratamiento o la prevención del cáncer de pulmón.

2. Agentes de unión a HER-3

Como se describe en el presente documento, el agente que se une a HER-3 es una proteína de unión a antígeno, tal como un anticuerpo. Como se usa en el presente documento, una "proteína de unión a antígeno" o "proteína de unión", como se usa en el presente documento significa una proteína que se une específicamente a un antígeno diana especificado, es decir, HER-3. Se dice que una proteína de unión a antígeno se "une específicamente" a su antígeno diana cuando la constante de disociación (K_D) es $\leq 10^{-8}$ M. El anticuerpo se une específicamente al antígeno con "alta afinidad" cuando la K_D es $\leq 5 \times 10^{-9}$ M, y con "muy alta afinidad" cuando la K_D es $\leq 5 \times 10^{-10}$ M. En una realización, el anticuerpo tiene una K_D de $\leq 10^{-9}$ M y una velocidad de disociación de aproximadamente 1×10^{-4} /s. En una realización, la velocidad de disociación es aproximadamente 1×10^{-5} /s. En otras realizaciones, los anticuerpos se unirán a un miembro especificado de la familia HER con una K_D de entre aproximadamente 10^{-8} M y 10^{-10} M, y en otra realización más se unirá con una $K_D \leq 2 \times 10^{-10}$.

Un anticuerpo dirigido a HER-3 se puede dirigir contra el dominio extracelular (ECD) de HER-3. Por ejemplo, un anticuerpo dirigido contra HER-3 como se describe en el presente documento puede interactuar con al menos un epítipo de la parte extracelular de HER-3. Los epítipos pueden localizarse en el dominio L1 del extremo amino (aa 19-184), en los dominios S1 (aa 185-327) y S2 (aa 500-632) ricos en cisteína, en el dominio L2 (328-499) que está flanqueado por los dos dominios ricos en cisteína, o en una combinación de los dominios HER-3. Los epítipos pueden localizarse también en combinaciones de dominios tales como, sin limitación, un epítipo constituido por partes de L1 y S1.

Una proteína de unión a HER-3 se puede caracterizar adicionalmente por que su unión a HER-3 reduce la transducción de la señal mediada por HER-3. Una reducción de la transducción de la señal mediada por HER-3 puede, por ejemplo, producirse por una regulación por defecto de HER-3 dando como resultado una desaparición al menos parcial de moléculas HER-3 de la superficie celular o mediante una estabilización de HER-3 sobre la superficie celular en una forma sustancialmente inactiva, es decir, una forma que presenta una transducción de la señal más baja en comparación con la forma no estabilizada. Como alternativa, una reducción de la transducción de la señal mediada por HER-3 también puede causarse alterando, por ejemplo, disminuyendo o inhibiendo, la unión de un ligando u otro miembro de la familia HER a HER-3. Por ejemplo, se puede producir también una reducción de la transducción de la señal mediada por HER-3, disminuyendo la formación de dímeros que contienen HER-3 con los otros miembros de la familia HER (por ejemplo, EGF-R).

Un agente de unión a HER-3 puede ser una proteína estructural que tiene una actividad de unión de tipo anticuerpo (por ejemplo, que tiene una actividad similar a un anticuerpo dirigido contra HER-3) o un anticuerpo, es decir, un anticuerpo dirigido contra HER-3. Como se usa en el presente documento, el término "proteína estructural" significa un polipéptido o proteína con áreas superficiales expuestas donde las inserciones, sustituciones o deleciones de

aminoácidos son muy tolerables. Los ejemplos de proteínas estructurales que se pueden utilizar de acuerdo con los presentes métodos incluyen la proteína A de *Staphylococcus aureus*, la proteína de unión a bilin de *Pieris brassicae* u otras lipocalinas, las proteínas de repetición ankyrin, y la fibronectina humana (revisado en Binz y Plückthun (2005) Curr. Opin. Biotechnol. 16:459-69). El diseño mediante ingeniería genética de una proteína estructural puede considerarse como un injerto o integración de una función de afinidad sobre o en el marco estructural de una proteína plegada de forma estable. La función de afinidad significa una afinidad de unión a proteína de acuerdo con el presente documento. Una estructura puede ser estructuralmente separable de las secuencias de aminoácidos que confieren especificidad de unión. En general, las proteínas que parecen adecuadas para el desarrollo de dichos reactivos de afinidad artificiales pueden obtenerse mediante técnicas de ingeniería genética lógicas, o de forma más común, mediante técnicas de ingeniería genética combinatoria de proteínas tales como cribado frente a la proteína HER-3, ya sea purificada o bien la proteína expresada sobre la superficie celular, para reconocer agentes de unión en una biblioteca de estructuras artificiales expresada *in vitro*, artes conocidas por los expertos en la técnica (véase, por ejemplo, Skerra (2000) J. Mol. Recog. 13:167-87; y Binz y Plückthun, *anteriormente*). Además, una proteína estructural que tiene una actividad de unión de tipo anticuerpo se puede derivar a partir de un polipéptido aceptor que contiene el dominio de la proteína, que se puede injertar en los dominios de unión de un polipéptido donante para conferir especificidad de unión del polipéptido donante sobre el dominio estructural que contiene el polipéptido aceptor. Los dominios de unión insertados pueden ser, por ejemplo, la región determinante de la complementariedad (CDR) de un anticuerpo, en particular un anticuerpo dirigido contra HER-3. La inserción puede llevarse a cabo por diversos métodos conocidos de los expertos en la materia incluyendo, por ejemplo, síntesis de polipéptidos, síntesis de ácidos nucleicos de un aminoácido codificante así como diversas formas de métodos recombinantes bien conocidas por los expertos en la materia.

El término "anticuerpo" incluye anticuerpos monoclonales, anticuerpos policlonales, anticuerpos recombinantes, anticuerpos humanizados (Jones et al. (1986) Nature 321:522-525; Riechmann et al. (1988) Nature 332:323-329; y Presta (1992) Curr. Op. Struct. Biol. 2:593-596), anticuerpos quiméricos (Morrison et al. (1984) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:6851-6855), anticuerpos multiespecíficos (por ejemplo, anticuerpos biespecíficos) formados a partir de al menos dos anticuerpos, o fragmentos de anticuerpos de los mismos. El término "fragmento de anticuerpo" comprende cualquier porción de los anticuerpos anteriormente mencionados, tales como sus regiones de unión a antígeno o las regiones variables. Los ejemplos de fragmentos de anticuerpos incluyen fragmentos Fab, fragmentos Fab', fragmentos F(ab')₂, fragmentos Fv, diacuerpos (Hollinger et al. (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-6448), moléculas de anticuerpos monocatenarios (Plückthun in: The Pharmacology of Monoclonal Antibodies 113, Rosenberg y Moore, eds., Springer Verlag, NY (1994), 269-315) y otros fragmentos siempre que presenten la capacidad de unión a HER-3 deseada.

Además, el término "anticuerpo", como se usa en el presente documento, incluye moléculas de tipo anticuerpo que contienen subdominios de anticuerpos diseñados mediante ingeniería genética o variantes de anticuerpos que se producen naturalmente. Estas moléculas de tipo anticuerpo pueden ser anticuerpos de dominio único tales como los dominios V_H único o V_Lúnico derivados tanto de fuentes naturales como los camélidos (Muyldermans et al. (2001) Rev. Mol. Biotechnol. 74:277-302) como de la expresión *in vitro* de bibliotecas procedentes de seres humanos, camélidos u otras especies (Holt et al. (2003) Trends Biotechnol. 21:484-90).

Un "fragmento Fv" es el fragmento de anticuerpo mínimo que contiene un sitio de reconocimiento y unión a antígeno completo. Esta región consiste en un dímero de un dominio variable de cadena pesada y un dominio variable de cadena ligera en estrecha asociación no covalente. Es en esta configuración que las tres CDR de cada dominio variable interactúan para definir un sitio de unión a antígeno sobre la superficie del dímero V_H-V_L. En su conjunto, las seis CDR confieren al anticuerpo especificidad de unión a un antígeno. Sin embargo, incluso un único dominio variable (o la mitad de un Fv que comprende solo tres CDR específicas para un antígeno) tiene la capacidad de reconocer y unirse al antígeno, aunque usualmente con una afinidad más baja que el sitio de unión completo. El "fragmento Fab" contiene también el dominio constante de la cadena ligera y el primer dominio constante (CH1) de la cadena pesada. El "fragmento Fab" difiere del "fragmento Fab'" por la adición de unos pocos restos en el extremo carboxi del dominio CH1 de la cadena pesada, incluyendo una o más cisteínas de la región bisagra del anticuerpo. El "fragmento F(ab')₂" se produce originalmente como un par de "fragmentos Fab" que tienen cisteínas bisagras entre ellos. Los métodos de preparar dichos fragmentos de anticuerpos, tales como digestión con papaína o pepsina, son conocidos por los expertos en la materia.

Un anticuerpo puede ser del tipo IgA, IgD, IgE, IgG o IgM, incluyendo los tipos IgG o IgM tales como, sin limitación, los tipos IgG1, los tipos IgG2, los tipos IgG3, los tipos IgG4, IgM1 e IgM2. Por ejemplo, en algunos casos, el anticuerpo es del tipo IgG1, IgG2 o IgG4.

En determinados aspectos, por ejemplo, vinculados a la generación de anticuerpos como candidatos terapéuticos contra HER-3, puede ser deseable que un anticuerpo sea capaz de fijar el complemento y participar en la citotoxicidad dependiente del complemento (CDC). Existen numerosos isotipos de anticuerpos que son capaces de lo mismo incluyendo: por ejemplo, IgM de murino, IgG2a de murino, IgG2b de murino, IgG3 de murino, IgM humano, IgG1 humano, IgG3 humano e IgA humano. Se apreciará que los anticuerpos que se generan no necesitan inicialmente poseer dicho isotipo sino, más bien, el anticuerpo que se genera puede poseer cualquier isotipo y el anticuerpo puede tener un isotipo cambiado mediante agregación de los genes de la región V clonados

molecularmente o ADNc a genes de la región constante clonados molecularmente, o ADNc en vectores de expresión adecuados usando técnicas de biología molecular convencionales bien conocidas en la materia y expresar a continuación los anticuerpos en células hospedadoras utilizando técnicas conocidas en la materia. El anticuerpo de isotipo cambiado puede poseer también una región Fc que se ha diseñado molecularmente mediante ingeniería genética para poseer una CDC superior sobre las variantes que se producen naturalmente (Idusogie et al. (2001) J. Immunol. 166:2571-2575) y se expresan recombinantemente en células hospedadoras utilizando técnicas conocidas en la materia. Dichas técnicas incluyen el uso de técnicas recombinantes directas (véase, por ejemplo, patente de Estados Unidos 4.816.397), técnicas de fusión célula a célula (véase, por ejemplo, patentes de Estados Unidos números 5.916.771 y 6.207.418), entre otras. En la técnica de fusión célula a célula, un mieloma u otra línea de células tal como CHO se prepara de tal manera que posea una cadena pesada con cualquier isotipo deseado y se prepara otro mieloma u otra línea de células tal como CHO de tal manera que posea la cadena ligera. Dichas células pueden posteriormente fusionarse, y se puede aislar una línea de células que expresa un anticuerpo intacto. A modo de ejemplo, un anticuerpo IgG4 humano dirigido contra HER-3 que posea la unión deseada al antígeno de HER-3 puede tener un isotipo cambiado fácilmente para generar un isotipo de una IgM humana, una IgG1 humana o una IgG3 humana, aunque sigue teniendo la misma región variable (que define la especificidad del anticuerpo y algo de su afinidad). Dicha molécula podría ser capaz a continuación de fijar el complemento y participar en la CDC.

Además, un anticuerpo puede ser también capaz de unirse a los receptores Fc sobre células efectoras tales como monocitos y linfocitos citotóxicos naturales (NK), y participar en la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC). Existen numerosos isotipos de anticuerpos que son capaces de lo mismo, incluyendo, sin limitación, los siguientes: IgG2a de murino, IgG2b de murino, IgG3 de murino, IgG1 humana e IgG3 humana. Se apreciará que los anticuerpos que se generan no necesitan inicialmente poseer dicho isotipo sino, más bien, el anticuerpo que se genera puede poseer cualquier isotipo y el anticuerpo puede tener un isotipo cambiado mediante agregación de los genes de la región V clonados molecularmente o ADNc a genes de la región constante clonados molecularmente, o ADNc en vectores de expresión adecuados usando técnicas de biología molecular convencionales bien conocidas en la materia y expresar a continuación los anticuerpos en células hospedadoras utilizando técnicas conocidas en la materia. El anticuerpo de isotipo cambiado puede poseer también una región Fc que se ha diseñado molecularmente mediante ingeniería genética para poseer una ADCC superior sobre las variantes que se producen naturalmente (Shields et al. (2001) J. Biol. Chem. 276:6591-604) y se expresan recombinantemente en células hospedadoras utilizando técnicas conocidas en la materia. Dichas técnicas incluyen el uso de técnicas recombinantes directas (véase, por ejemplo, patente de Estados Unidos 4.816.397), técnicas de fusión célula a célula (véase, por ejemplo, patentes de Estados Unidos números 5.916.771 y 6.207.418), entre otras. En la técnica de fusión célula a célula, un mieloma u otra línea de células tal como CHO se prepara de tal manera que posea una cadena pesada con cualquier isotipo deseado y se prepara otro mieloma u otra línea de células tal como CHO de tal manera que posea la cadena ligera. Dichas células pueden posteriormente fusionarse, y se puede aislar una línea de células que expresa un anticuerpo intacto. A modo de ejemplo, un anticuerpo IgG4 humano dirigido contra HER-3 que posea la unión deseada al antígeno de HER-3 podría tener un isotipo cambiado fácilmente para generar un isotipo de una IgG1 humana o una IgG3 humana, aunque sigue teniendo la misma región variable (que define la especificidad del anticuerpo y algo de su afinidad). Dicha molécula puede ser a continuación capaz de unirse a FcγR sobre las células efectoras y participar en la ADCC.

La TABLA 10 del presente documento proporciona secuencias de aminoácidos para numerosas CDR que pueden incluirse en anticuerpos contra HER-3. Una proteína de unión aislada dirigida a HER-3 puede incluir una secuencia de aminoácidos de la cadena pesada que contiene al menos una CDR seleccionada entre el grupo que consiste en: (a) una CDRH1 como se muestra en las SEQ ID NOS: 2, 6, 10, 14, 18, 22, 26, 30, 34, 36, 40, 42, 46, 50, 54, 60, 62, 66, 70, 74, 78, 80, 84, 88, 92, 96, 100, 104, 108, 112, 116, 120, 122, 126, 130, 134, 138, 142, 146, 150, 154, 158, 162, 166, 170, 174, 178, 182, 186, 190, 194, 198, 202, 206, 210, 214, 218, 222, 226 y 230, (b) una CDRH2 como se muestra en las SEQ ID NOS: 2, 6, 10, 14, 18, 22, 26, 30, 34, 36, 40, 42, 46, 50, 54, 60, 62, 66, 70, 74, 78, 80, 84, 88, 92, 96, 100, 104, 108, 112, 116, 120, 122, 126, 130, 134, 138, 142, 146, 150, 154, 158, 162, 166, 170, 174, 178, 182, 186, 190, 194, 198, 202, 206, 210, 214, 218, 222, 226 and 230, y (c) una CDRH3 como se muestra en las SEQ ID NOS: 2, 6, 10, 14, 18, 22, 26, 30, 34, 36, 40, 42, 46, 50, 54, 60, 62, 66, 70, 74, 78, 80, 84, 88, 92, 96, 100, 104, 108, 112, 116, 120, 122, 126, 130, 134, 138, 142, 146, 150, 154, 158, 162, 166, 170, 174, 178, 182, 186, 190, 194, 198, 202, 206, 210, 214, 218, 222, 226 y 230, y/o una secuencia de aminoácidos de la cadena ligera que comprende al menos una de las CDR seleccionadas entre el grupo que consiste en: (d) una CDRL1 como se muestra en las SEQ ID NO: 4, 8, 12, 16, 20, 24, 28, 32, 38, 44, 48, 52, 56, 58, 64, 68, 72, 76, 82, 86, 90, 94, 98, 102, 106, 110, 114, 118, 124, 128, 132, 136, 140, 144, 148, 152, 156, 160, 164, 168, 172, 176, 180, 184, 188, 192, 196, 200, 204, 208, 212, 216, 220, 224, 228 y 232, (e) una CDRL2 como se muestra en las SEQ ID NOS: 4, 8, 12, 16, 20, 24, 28, 32, 38, 44, 48, 52, 56, 58, 64, 68, 72, 76, 82, 86, 90, 94, 98, 102, 106, 110, 114, 118, 124, 128, 132, 136, 140, 144, 148, 152, 156, 160, 164, 168, 172, 176, 180, 184, 188, 192, 196, 200, 204, 208, 212, 216, 220, 224, 228 y 232, y (f) una CDRL3 como se muestra en las SEQ ID NOS: 4, 8, 12, 16, 20, 24, 28, 32, 38, 44, 48, 52, 56, 58, 64, 68, 72, 76, 82, 86, 90, 94, 98, 102, 106, 110, 114, 118, 124, 128, 132, 136, 140, 144, 148, 152, 156, 160, 164, 168, 172, 176, 180, 184, 188, 192, 196, 200, 204, 208, 212, 216, 220, 224, 228 y 232, como se muestra en el listado de secuencias adjunto al presente documento. Una proteína de unión a antígeno para su uso de acuerdo con la invención es como se define en las reivindicaciones. Se proporcionan otras proteínas de unión a antígeno como ejemplos comparativos.

Una proteína de unión aislada dirigida a HER-3 puede incluir una secuencia de aminoácidos de la cadena pesada

seleccionada entre el grupo que consiste en las SEQ ID NOS:2, 6, 10, 14, 18, 22, 26, 30, 34, 36, 40, 42, 46, 50, 54, 60, 62, 66, 70, 74, 78, 80, 84, 88, 92, 96, 100, 104, 108, 112, 116, 120, 122, 126, 130, 134, 138, 142, 146, 150, 154, 158, 162, 166, 170, 174, 178, 182, 186, 190, 194, 198, 202, 206, 210, 214, 218, 222, 226 y 230, y/o una secuencia de aminoácidos de la cadena ligera seleccionada entre el grupo que consiste en las SEQ ID NOS:4, 8, 12, 16, 20, 24, 28, 32, 38, 44, 48, 52, 56, 58, 64, 68, 72, 76, 82, 86, 90, 94, 98, 102, 106, 110, 114, 118, 124, 128, 132, 136, 140, 144, 148, 152, 156, 160, 164, 168, 172, 176, 180, 184, 188, 192, 196, 200, 204, 208, 212, 216, 220, 224, 228 y 232, como se muestra en el listado de secuencias adjunto al presente documento.

Un anticuerpo dirigido contra HER-3 puede incluir una secuencia de aminoácidos de la cadena pesada y una secuencia de aminoácidos de la cadena ligera como se muestra en las SEQ ID NOS: 2 y 4, 6 y 8, 10 y 12, 14 y 16, 18 y 20, 22 y 24, 26 y 28, 30 y 32, 36 y 38, 42 y 44, 46 y 48, 50 y 52, 54 y 56, 60 y 58, 62 y 64, 66 y 68, 70 y 72, 74 y 76, 78 y 82, 80 y 82, 84 y 86, 88 y 90, 92 y 94, 96 y 98, 100 y 102, 104 y 106, 108 y 110, 112 y 114, 116 y 118, 122 y 124, 126 y 128, 130 y 132, 134 y 136, 138 y 140, 142 y 144, 146 y 148, 150 y 152, 154 y 156, 158 y 160, 162 y 164, 166 y 168, 170 y 172, 174 y 176, 178 y 180, 182 y 184, 186 y 188, 190 y 192, 194 y 196, 198 y 200, 202 y 204, 206 y 208, 210 y 212, 214 y 216, 218 y 220, 222 y 224, 226 y 228, 230 y 232, o una secuencia de aminoácidos de la cadena pesada como se muestra en una cualquiera de las SEQ ID NOS:34, 40, 60, 62, y 120, o una secuencia de aminoácidos de la cadena ligera como se muestra en cualquiera de las SEQ ID NOS: 58 y 64, como se muestra en el listado de secuencias adjunto al presente documento.

Una proteína dirigida a HER-3 puede ser una proteína estructural que tiene una actividad de unión de tipo anticuerpo (por ejemplo, que tiene una actividad similar a un anticuerpo dirigido contra HER-3) o un anticuerpo, por ejemplo, un anticuerpo dirigido contra HER-3. Los anticuerpos dirigidos contra HER-3 ilustrativos se designan U1-1, U1-2, U1-3, U1-4, U1-5, U1-6, U1-7, U1-8, U1-9, U1-10, U1-11, U1-12, U1-13, U1-14, U1-15, U1-16, U1-17, U1-18, U1-19, U1-20, U1-21, U1-22, U1-23, U1-24, U1-25, U1-26, U1-27, U1-28, U1-29, U1-30, U1-31, U1-32, U1-33, U1-34, U1-35, U1-36, U1-37, U1-38, U1-39, U1-40, U1-41, U1-42, U1-43, U1-44, U1-45, U1-46, U1-47, U1-48, U1-49, U1-50, U1-51, U1-52, U1-53, U1-55.1, U1-55, U1-57.1, U1-57, U1-58, U1-59, U1-61.1, U1-61, y U1-62, o los anticuerpos que tienen al menos una cadena pesada o ligera de uno de los anticuerpos anteriormente mencionados. El anticuerpo designado U1-59 (SEQ ID NO: 70/72), puede utilizarse de acuerdo con la presente invención.

Debe entenderse que la secuencia de aminoácidos de las proteínas de unión a HER-3 descrita en el presente documento no está limitada a los veinte aminoácidos convencionales (véase, *Immunology - A Synthesis* (2ª Edición, Golub y Gren, eds., Sinauer Associates, Sunderland, Mass. (1991))). Por ejemplo, los aminoácidos pueden incluir estereoisómeros (por ejemplo, D-aminoácidos) de los veinte aminoácidos convencionales, aminoácidos no naturales tales como aminoácidos α,α disustituidos, N-alquil aminoácidos, ácido láctico, y otros aminoácidos no convencionales. Los ejemplos de aminoácidos no convencionales, que pueden ser también componentes adecuados para las proteínas de unión proporcionadas en el presente documento, incluyen: 4-hidroxiprolina, γ -carboxiglutamato, ϵ -N,N,N-trimetilisina, ϵ -N-acetilisina, O-fosfoserina, N-acetilserina, N-formilmetionina, 3-metilhistidina, 5-hidroxilisina, σ -N-metilarginina, y otros aminoácidos e iminoácidos similares, por ejemplo, 4-hidroxiprolina.

Además, se contemplan variaciones menores en las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOS 70 y 72 como abarcadas por la presente divulgación, con la condición de que las variaciones no estén en las secuencias de las CDR definidas en las reivindicaciones y mantengan al menos un 75% (por ejemplo, al menos un 80%, 90%, 95% o 99%) de las secuencias que se muestran en las SEQ ID NOS:70 y 72. Se pueden producir variaciones en las regiones marco (es decir, fuera de las CDR. En algunas realizaciones, las variaciones en las secuencias de aminoácidos, es decir, deleciones, inserciones y/o sustituciones de al menos un aminoácido, pueden producirse cerca de los límites de los dominios funcionales. Pueden identificarse dominios estructurales y funcionales por comparación de los datos de los nucleótidos y/o las secuencias de aminoácidos en bases de datos públicas o privadas. Se pueden utilizar métodos informatizados de comparación para identificar motivos de secuencias o predecir los dominios de conformación de proteínas que se producen en otras proteínas de unión de estructura y/o función conocida. Se conocen en la técnica métodos para identificar secuencias de proteínas que se pliegan en una estructura tridimensional conocida. (Véanse por ejemplo, Bowie et al. (1991) *Science* 253:164; *Proteins, Structures and Molecular Principles*, Creighton, Ed., W H. Freeman and Company, Nueva York (1984); *Introduction to Protein Structure*, Branden y Tooze, eds., Garland Publishing, Nueva York, N.Y. (1991); y Thornton et al. (1991) *Nature* 354:105). De esta manera, los expertos en la materia pueden reconocer motivos de secuencias y conformaciones estructurales que se pueden utilizar para definir dominios estructurales y funcionales de acuerdo con las proteínas descritas en el presente documento.

Las variaciones en las secuencias de aminoácidos que se muestran en las SEQ ID NOS:70 y 72 pueden incluir las que conducen a una susceptibilidad reducida a la proteólisis o a la oxidación, alterar los modelos de glicosilación o alterar las afinidades de unión o conferir o modificar otras propiedades fisicoquímicas o funcionales de la proteína de unión. En particular, se contemplan sustituciones de aminoácidos conservativas. Las sustituciones conservativas son aquellas que tienen lugar en una familia de aminoácidos que están relacionados en sus cadenas secundarias. Las familias de aminoácidos incluyen los siguientes: familia ácida = aspartato, glutamato; familia básica = lisina, arginina, histidina; familia no polar = alanina, valina, leucina, isoleucina, prolina, fenilalanina, metionina, triptófano; y familia polar no cargada = glicina, asparagina, glutamina, cisteína, serina, treonina, tirosina. Las familias alternativas

incluyen: familia hidroxialifática = serina y treonina; familia que contiene amida = asparagina y glutamina; familia alifática = alanina, valina, leucina e isoleucina; y familia aromática = fenilalanina, triptófano, y tirosina. Por ejemplo, es razonable esperar que una sustitución aislada de una leucina con una isoleucina o valina, un aspartato con un glutamato, una treonina con una serina, o una sustitución similar de un aminoácido con un aminoácido estructuralmente relacionado no tendrá un mayor efecto sobre la unión o las propiedades de la proteína de unión resultante, especialmente si la sustitución no implica un aminoácido en un sitio del marco. Sin embargo, todas las otras posibles sustituciones de aminoácidos están también abarcadas en el presente documento. Si se produce un cambio de aminoácido, puede determinarse fácilmente una proteína de unión a HER-3 funcional que reduce la transducción de la señal de HER-3 evaluando la actividad de unión específica de HER-3 de la proteína de unión resultante mediante ELISA o FACS o mediante ensayos funcionales *in vitro* o *in vivo*.

En algunas realizaciones, se puede acoplar una proteína de unión a HER-3 a un grupo efector. Dicha proteína de unión puede ser especialmente útil en aplicaciones terapéuticas. Como se usa en el presente documento, el término "grupo efector se refiere a un grupo citotóxico tal como un radioisótopo o un radionucleido, una toxina, un grupo terapéutico u otro grupo efector conocido en la materia. Los ejemplos de grupos efectores adecuados son radioisótopos o radionucleidos (por ejemplo, ^3H , ^{14}C , ^{15}N , ^{35}S , ^{90}Y , ^{99}Tc , ^{111}In , ^{125}I , ^{131}I) o isótopos sin radio (por ejemplo, 2D), caliqueamicina, análogos de dolastatina tales como auristatinas, y agentes quimioterapéuticos tales como geldanamicina y derivados de maitansina, incluyendo DM1. Por lo tanto, en algunos casos, un grupo puede ser un grupo marcado y un grupo efector. Se conocen en la técnica diversos métodos para unir grupos efectores a polipéptidos o glicopolipéptidos (tales como anticuerpo), y se pueden utilizar en la preparación y el transporte de las composiciones y métodos descritos en el presente documento. En algunas realizaciones, puede ser útil tener grupos efectores unidos a una proteína de unión por brazos separadores de diversas longitudes para, por ejemplo, reducir el impedimento estérico potencial.

Este documento se refiere también a procesos para preparar una proteína de unión a HER-3 aislada, que comprende la etapa de preparar la proteína a partir de una célula hospedadora que expresa la proteína. Las células hospedadoras que pueden utilizarse incluyen, sin limitación, hibridomas, células eucariotas (por ejemplo, células de mamíferos tales como células de hámster, conejo, rata, cerdo, o ratón), células vegetales, células fúngicas, células de levaduras (por ejemplo, células de *Saccharomyces cerevisiae* o *Pichia pastoris*), células procariotas (por ejemplo, células de *E. coli*), y otras células utilizadas para la producción de proteínas de unión. Varios métodos para preparar y aislar proteínas de unión, tales como proteínas estructurales o anticuerpos, a partir de células hospedadoras, se conocen en la técnica y se pueden usar para llevar a cabo los métodos descritos en el presente documento. Además, los métodos para preparar fragmentos de proteínas de unión, por ejemplo, fragmentos de proteínas estructurales o fragmentos de anticuerpos, tales como digestión con papaína o pepsina, técnicas de clonación modernas, técnicas para preparar moléculas de anticuerpos monocatenarios (Plückthun, anteriormente) y diacuerpos (Hollinger *et al.*, anteriormente), son también conocidas de los expertos en la técnica y se pueden usar para llevar a cabo los métodos actualmente descritos.

En algunas realizaciones, se puede preparar una proteína de unión a HER-3 a partir de un hibridoma que secreta la proteína. Véase, por ejemplo, Köhler *et al.* (1975) *Nature* 256:495.

En algunas realizaciones, se puede preparar una proteína de unión a HER-3 de forma recombinante optimizando y/o amplificando la expresión de la proteína de unión en las células hospedadoras, y aislando la proteína de unión de las células hospedadoras. Con este fin, las células hospedadoras pueden transformarse o transfectarse con ADN (por ejemplo, un vector) que codifica una proteína de unión a HER-3, y cultivarse en condiciones adecuadas para producir la proteína de unión. Véase, por ejemplo, patente de Estados Unidos n.º 4.816.567. Las células hospedadoras útiles incluyen, por ejemplo, células CHO, células NS/O de mieloma, células 293 de riñón embrionario humano, células de *E. coli*, y células de *Saccharomyces cerevisiae*.

Se pueden preparar proteínas de unión a HER-3 que son anticuerpos preparados a partir de animales diseñados mediante ingeniería genética para preparar anticuerpos completamente humanos, o a partir de una biblioteca de expresión de anticuerpos preparada en un bacteriófago, levadura, ribosoma o *E. coli*. Véase, por ejemplo, Clackson *et al.* (1991) *Nature* 352:624-628; Marks *et al.* (1991) *J. Mol. Biol.* 222:581-597; Feldhaus y Siegel (2004) *J. Immunol. Methods* 290:69-80; Groves y Osbourn (2005) *Expert Opin. Biol. Ther.* 5:125-135; y Jostock y Dubel (2005) *Comb. Chem. High Throughput Screen* 8:127-133.

En algunas realizaciones, los anticuerpos que se describen en el presente documento pueden ser anticuerpos completamente humanos o humanizados. Los anticuerpos humanos evitan determinados problemas asociados con los anticuerpos xenogénicos, tales como los anticuerpos que poseen regiones variables y/o constantes de murino o rata. La presencia de proteínas derivadas xenogénicas puede conducir a una respuesta inmunitaria frente al anticuerpo por un paciente, lo que posteriormente conduce a la rápida eliminación del anticuerpo, la pérdida de utilidad terapéutica a través de la neutralización del anticuerpo, y/o reacciones alérgicas graves, incluso peligrosas para la vida. Para evitar la utilización de anticuerpos derivados de murino o rata, se pueden generar anticuerpos completamente humanos mediante la introducción de loci de anticuerpos humanos funcionales en un roedor u otro mamífero o animal para que el roedor, u el otro mamífero o animal produzcan anticuerpos completamente humanos.

Un método para generar anticuerpos completamente humanos es utilizar variedades de ratones XENOMOUSE® que se han diseñado mediante ingeniería genética para contener fragmentos de configuración de la línea germinal de un tamaño de 245 kb y 190 kb del locus de la cadena pesada y del locus de la cadena ligera kappa humanas. Otras variedades de ratones XENOMOUSE® contienen fragmentos de configuración de la línea germinal de un tamaño de 980 kb y 800 kb del locus de la cadena pesada y el locus de la cadena ligera kappa humanas. Otras variedades adicionales de ratones XENOMOUSE® contienen fragmentos de configuración de la línea germinal de un tamaño de 980 kb y 800 kb del locus de la cadena pesada y el locus de la cadena ligera kappa humanas más un locus de la cadena ligera lambda humana completa configurado para la línea germinal de un tamaño de 740 kb. Véase, Clackson et al. (1997) Nature Genetics 15:146-156; y Green y Jakobovits (1998) J. Exp. Med. 188:483-495. Las variedades de XENOMOUSE® están disponibles de Amgen, Thousand Oaks, CA.

La producción de ratones XENOMOUSE® se describe y delinea adicionalmente en la publicación de patente de Estados Unidos 2003/0217373, presentada el 20 de noviembre de 2002; las patentes de Estados Unidos números 5.939.598, 6.075.181, 6.114.598, 6.150.584, 6.162.963, 6.673.986, 6.833.268, y 7.435.871, y las patentes japonesas números 3068180B2, 3068506B2, y 3068507B2. Véase, además, la patente europea n.º EP0463151, las publicaciones PCT con números WO 94/02602, WO 96/34096, WO 98/24893 y WO 00/76310.

Como alternativa, se puede usar una estrategia de tipo "minilocus". En la estrategia de tipo minilocus, se imita un locus Ig exógeno mediante la inclusión de partes (genes individuales) procedentes del locus Ig. Por lo tanto, uno o más genes V_H, uno o más genes D_H, uno o más genes J_H, una región mu constante, y una segunda región constante (por ejemplo, una región gamma constante) se forman en una construcción para la inserción en un animal. Esta estrategia se describe en las patentes de los Estados Unidos 5.545.806, 5.545.807, 5.569.825, 5.591.669, 5.612.205, 5.625.126, 5.625.825, 5.633.425, 5.643.763, 5.661.016, 5.721.367, 5.770.429, 5.789.215, 5.789.650, 5.814.318, 5.874.299, 5.877.397, 5.981.175, 6.023.010, 6.255.458, las divulgaciones de las cuales se incorporan por lo tanto por referencia en su totalidad en el presente documento. Véase, además, patente EP n.º 0546073, y publicaciones PCT números WO 92/03918, WO 92/22645, WO 92/22647, WO 92/22670, WO 93/12227, WO 94/00569, WO 94/25585, WO 96/14436, WO 97/13852 y WO 98/24884.

Se pueden generar también anticuerpos humanos a partir de ratones en los que, a través de una fusión microcelular, se han introducido grandes partes de cromosomas, o cromosomas completos. Véase, las solicitudes de patentes EP con números 773288 y 843961. Además, se han generado ratones KMTM, que son el resultado de la reproducción cruzada de ratones TC de Kirin con ratones con el minilocus de Medarex (Humab). Estos ratones poseen el transcromosoma HC de los ratones Kirin y el transgén de la cadena kappa de los ratones Medarex (Ishida et al. (2002) Cloning Stem Cells 4:91-102).

Se pueden derivar también anticuerpos humanos mediante métodos *in vitro*. Los ejemplos adecuados incluyen, aunque no de forma limitativa, la expresión en fagos (como comercializa Cambridge Antibody Technology, Morphosys, Dyax, Biosite/Medarex, Xoma, Symphogen, Alexion (anteriormente Proliferon), y Affimed), la expresión de ribosomas (como comercializa Cambridge Antibody Technology), la expresión de levaduras, y similares.

Como se describe en el presente documento, se prepararon los anticuerpos utilizando tecnología XENOMOUSE®, como se describe a continuación. Dichos ratones son capaces de producir moléculas de la inmunoglobulina humana y anticuerpos, y son deficientes en la producción de moléculas de inmunoglobulina de murino y anticuerpos. Las tecnologías utilizadas para conseguir lo mismo se divulgan en las patentes, solicitudes, y referencias divulgadas en el presente documento. Por ejemplo, la producción transgénica de ratones y anticuerpos de los anteriores de divulga en la solicitud de patente de Estados Unidos con n.º de serie 08/759.620, presentada el 3 de diciembre de 1996 y las publicaciones PCT números WO 98/24893 y WO 00/76310. Véase también Mendez et al. (1997) Nature Genetics 15:146-156.

Utilizando la tecnología que se describe en el presente documento, se pueden producir anticuerpos monoclonales completamente humanos contra una variedad de antígenos. Por ejemplo, se pueden inmunizar líneas de ratones XENOMOUSE® con un antígeno HER-3 de interés (por ejemplo, HER-3 o un fragmento del mismo), se pueden recuperar células linfáticas (tales como linfocitos B) a partir de ratones que expresan anticuerpos, y las líneas de células recuperadas pueden fusionarse con una línea de células de tipo mielóide para preparar líneas de células de hibridoma inmortales. Estas líneas de células de hibridoma pueden cribarse y seleccionarse para identificar líneas de células de hibridoma que producen anticuerpos específicos para el antígeno de interés. Se proporcionan en el presente documento métodos para la producción de múltiples líneas de células de hibridoma que producen anticuerpos específicos para HER-3. Se proporcionan además en el presente documento métodos para caracterizar anticuerpos producidos por dichas líneas de células, incluyendo el análisis de la secuencia de nucleótidos y aminoácidos de las cadenas pesada y ligera de dichos anticuerpos.

En general, los anticuerpos producidos por hibridomas fusionados como se describe a continuación son cadenas pesadas de IgG1 humanas con cadenas ligeras kappa completamente humanas, aunque algunos anticuerpos descritos en el presente documento poseen cadenas pesadas de IgG4 humanas así como cadenas pesadas de IgG1 humanas. Los anticuerpos pueden ser también de otros isotipos humanos, incluyendo IgG2 e IgG3. Los anticuerpos tienen generalmente elevadas afinidades, con una K_D normalmente de aproximadamente 10⁻⁶ a

aproximadamente 10^{-13} M o menor, cuando se miden mediante técnicas de fase sólida y basadas en células.

Este documento describe también moléculas de ácido nucleico aislado que codifican las proteínas de unión a HER-3 como se describe en el presente documento. El término "molécula de ácido nucleico aislado", como se usa en el presente documento, se refiere a un polinucleótido de ADNc genómico, o de origen sintético, o alguna combinación de los mismos, que (1) no está asociado con todo o una parte de un polinucleótido con el cual el "polinucleótido aislado" se encuentra en la naturaleza, (2) está unido de forma operativa a un polinucleótido al cual no está unido en la naturaleza, o (3) no se produce en la naturaleza como parte de una secuencia más grande. Además, el término "molécula de ácido nucleico", como se usa en el presente documento, significa una forma polimérica de nucleótidos de al menos 10 bases de longitud, tanto ribonucleótidos como desoxinucleótidos o una forma modificada de cualquier tipo de nucleótido, tal como nucleótidos con grupos azúcar modificados o sustituidos y similares. El término incluye también formas monocatenarias y bicatenarias de ADN.

Una molécula de ácido nucleico puede unirse operativamente a una secuencia control. El término "secuencia control", como se usa en el presente documento, se refiere a secuencias de polinucleótidos que son necesarias para efectuar la expresión y el procesamiento de secuencias de codificación a las cuales están ligadas. La naturaleza de dichas secuencias control difiere dependiendo del organismo hospedador. En procariontes, dichas secuencias control incluyen generalmente promotores, sitios de unión a ribosomas, y secuencias de terminación de la transcripción. En eucariotas, generalmente, dichas secuencias control incluyen promotores y secuencias de terminación de la transcripción. Se pretende que la expresión "secuencia control" incluya, como mínimo, todos los componentes cuya presencia es esencial para la expresión y procesamiento, y puede incluir también componentes adicionales cuya presencia es ventajosa, por ejemplo, secuencias líder y secuencias de ligandos. Además, el término "unido operativamente", como se usa en el presente documento, se refiere a posiciones de componentes descritas de esta manera que están en una relación que las permite funcionar en su manera prevista. Además, una secuencia control de la expresión unida operativamente a una secuencia de codificación está ligada de tal manera que se consigue la expresión de la secuencia de codificación en condiciones compatibles con la secuencia control de la expresión.

Se describen también en el presente documento vectores que comprenden una molécula de ácido nucleico que codifica una proteína de unión como se describe en el presente documento. La molécula de ácido nucleico puede unirse operativamente a una secuencia control. Además, el vector puede contener adicionalmente un origen de replicación o un gen marcador de la selección. Los ejemplos de vectores que se pueden utilizar incluyen, por ejemplo, plásmidos, cósmidos, fagos, y virus.

Este documento describe también células hospedadoras transformadas con una molécula de ácido nucleico o un vector, como se describe en el presente documento. Se puede llevar a cabo la transformación mediante cualquier método conocido para introducir polinucleótidos en una célula hospedadora, incluyendo, por ejemplo, empaquetar el polinucleótido en un virus (o en un vector vírico) y transducir una célula hospedadora con el virus (o vector), o mediante procedimientos de transfección conocidos en la técnica, como se ilustra mediante las patentes de Estados Unidos números 4.399.216, 4.912.040, 4.740.461 y 4.959.455. Los métodos para introducir polinucleótidos heterólogos en células de mamíferos son bien conocidos en la técnica, e incluyen, sin limitación, transfección mediada por dextrano, precipitación con fosfato de calcio, transfección mediada con polibreno, fusión de protoplastos, electroporación, encapsulación del(de los) polinucleótido(s) en liposomas, y microinyección directa del ADN en núcleos. Los ejemplos de células hospedadoras que se pueden usar incluyen hibridomas, células eucariotas (por ejemplo, células de mamíferos tales como células de hámster, conejo, rata, cerdo, ratón u otros animales), células vegetales (por ejemplo, células de maíz y tabaco), células fúngicas (por ejemplo, células de *S. cerevisiae* y *P. pastoris*), células procariontes tales como *E. coli*, y otras células utilizadas en la técnica para la producción de anticuerpos. Las líneas de células de mamíferos disponibles como hospedadores para la expresión son bien conocidas en la técnica e incluyen, por ejemplo, muchas líneas de células inmortalizadas disponibles de la American Type Culture Collection (ATCC; Manassas, VA). Estas incluyen, sin limitación, células de ovario de hámster chino (CHO), células HeLa, células de riñón de cría de hámster (BHK), células de riñón de mono (COS), células de carcinoma hepatocelular humano (por ejemplo, células Hep G2), y otras numerosas líneas de células.

3. Agentes que se unen a otros miembros de la familia HER

Como se ha reseñado anteriormente, las composiciones y métodos descritos en el presente documento para el tratamiento de la enfermedad asociada a HER-3 incluyen un primer agente que se une a HER-3, en combinación con un segundo agente que se une y/o inhibe al menos un miembro diferente de la familia HER, incluyendo, aunque no de forma limitativa, EGF-R, HER-2, HER-4. De acuerdo con la invención, el segundo agente es Erlotinib. Otros ejemplos fuera del alcance de la invención incluyen fármacos biológicos, por ejemplo, una proteína de unión, tal como un anticuerpo que se une específicamente a un miembro de la familia HER, un compuesto molecular pequeño que se une a y/o altera (por ejemplo, inhibe) la actividad de al menos un miembro de la familia HER diferente de (o además de) HER-3, un ARNi, o una sustancia natural. Como se usa en el presente documento, las expresiones "otros miembros de la familia HER" y "otro miembro de la familia HER" se refieren a miembros de la familia HER que no son HER-3. Los ejemplos son EGF-R, HER-2, y HER-4, pero "miembro de la familia HER" incluye también los miembros de la familia que no se han identificado todavía.

El segundo agente puede alterar la actividad (por ejemplo, aumentar o disminuir) la actividad del otro miembro de la familia HER, tanto a través de un efecto directo como un efecto indirecto sobre el miembro de la familia HER. Debe señalarse, sin embargo, que todos los segundos agentes que se describen en el presente documento tendrán un efecto sobre la función y la actividad de la familia HER.

5 Erlotinib (comercializado como TARCEVA™) es un fármaco utilizado para tratar NSCLC, el cáncer de páncreas, y varios tipos diferentes de cánceres. Erlotinib se dirige específicamente al EGF-R de la tirosina quinasa, uniéndose de forma reversible al sitio de unión al ATP del receptor. De acuerdo con la invención, una composición para el tratamiento del cáncer de pulmón puede ser U1-59, combinado con erlotinib, o U1-59, combinado con erlotinib y otro(s) agente(s). En algunas realizaciones preferidas, U1-59 se puede usar en el tratamiento de pacientes con cánceres incluyendo cáncer de pulmón no microcítico (NSCLC), NSCLC localmente avanzado y NSCLC metastásico tras el fracaso de al menos un régimen de quimioterapia anterior, combinado con erlotinib.

15 4. Agentes adicionales para utilizarse en las composiciones y métodos descritos en el presente documento

Se pueden añadir agentes adicionales al primer y segundo agente para su uso de acuerdo con la invención. Estos, en algunas realizaciones, serán fármacos quimioterapéuticos.

20 Por ejemplo, los agentes que actúan como estimulantes de los microtúbulos incluyen NK-105(paclitaxel) [(-)-(2R,3S)-3-benzoilamino-2-hidroxi-3-fenilpropionato de (1S,2R,3S,4S,5R,7S,8S,10R,13S)-4,10-diacetoxi-2-benzoiloxi-5,20-epoxi-1,7-dihidroxi-9-oxotax-11-en-13-ilo] (NanoCarrier, Chiba, Japón), milataxel (1,10β-dihidroxi-9-oxo-5β,20-epoxi-3zeta-tax-11-eno-2α,4,7β13α-tetrail 4-acetato 2-benzoato 13-[(2R,3R)-3-(terc-butoxicarbonilamino)-3-(furan-2-il)-2-hidroxiopropanoato] 7-propanoato) (Taxolog, Fairfield, NJ), laulimalida (Kosan Biosciences, Hayward, CA (B-M Squibb)), sarcodictiina A (1R,4aR,6S,7S,10R,12aR)-11-metoxicarbonil-7,10-epoxi-10-hidroxi-1-isopropil-4,7-dimetil-1,2,4a,5,6,7,10,12a-octahidrobencociclododecen-6-il éster del ácido (3-(1-metilimidazol-4-il)-2(E)-propenoico (Pfizer, New York, NY), simotaxel (12b-acetato 12-benzoato 6-ciclopentanocarboxilato 9-[(2R,3R)-2-hidroxi-3-[(1-metiletoxi)carbonil]amino]-3-(tiofen-2-il)propanoato] de ((2aR,4S,4aS,6R,9S,11S,12S,12aR,12bS)-4,11-dihidroxi-4a,8,13,13-tetrametil-5-oxo-2a,3,4,4a,5,6,9,10,11,12,12a,12b-dodecahidro-7,11-metano-1H-ciclodeca[3,4]benz[1,2-b]oxete-6,9,12,12b-tetrailo) (Taxolog, Fairfield, NJ), SYN-2001 (CLL Pharma, Niza, Francia), TL-310 (Taxolog, Fairfield, NJ), TL1836 (Taxolog, Fairfield, NJ), tesetaxel (4-acetato 2-benzoato 13-[(2R,3S)-3-[(terc-butoxicarbonil)amino]-3-(3-fluoropiridin-2-il)-2-hidroxiopropanoato de 2'-[(dimetilamino)metil]-1-hidroxi-5β,20-epoxi-9α,10α-dihidro[1,3]dioxolo[4',5':9,10]tax-11-eno-2α,4,13α-triilo) (Daiichi Sankyo, Tokio, Japón), TL-1892 (Taxolog, Fairfield, NJ), TPI-287(N-terc-butyl éster del ácido (2'R,3'S)-2'-hidroxi-N-carboxi-3'-amino-5'-metil-hexanoico), 13 éster 50-20-epoxi-1,2α,4,7β,9α,10α,13α-heptahidroxi-4,10-diacetato-2-benzoato-7,9-acroleína acetal-tax-11-eno (Tapestry Pharmaceuticals, Boulder, CO), ortataxel (6,12b-diacetoxi-12-benzoiloxi-10,11-carboniloxi-4-hidroxi-4a,8,13,13-tetrametil-5-oxo-2a,3,4,4a,5,6,9,10,11,12,12a,12b-dodecahidro-1H-7,11-metanociclododeca[3,4]benz[1,2-b]oxet-9-il éster del ácido 2aR-[2α,4β,4aβ,6β,9α(2R,3S),10β,11β, 12α,12aα,12bα]-3-(tert-butoxicarbonilamino)-2-hidroxi-5-metil-hexanoico) (Indena, Milán, Italia), paclitaxel poliglumex ácido (L-piroglutamilpoli-L-glutamil-L-glutámico γ-esterificado parcialmente con (1R,2S)-2-(benzoilamino)-1-[[[(2aR,4S,4aS,6R,9S,11S,12S,12aR,12bS)-6,12b-bis(acetiloxi)-12-(benzoiloxi)-4,11-dihidroxi-4a,8,13,13-tetrametil-5-oxo-2a,3,4,4a,5,6,9,10,11,12,12a,12b-dodecahidro-7,11-metano-1H-ciclododeca[3,4]benzo[1,2-b]oxet-9-il]oxi]carbonil]-2-feniletilo) (Cell Therapeutics, Seattle, WA), partículas unidas a la proteína paclitaxel (paclitaxel: (-)-(2R,3S)-3-benzoilamino-2-hidroxi-3-fenilpropionato de (1S,2R,3S,4S,5R,7S,8S,10R,13S)-4,10-diacetoxi-2-benzoiloxi-5,20-epoxi-1,7-dihidroxi-9-oxotax-11-en-13-ilo) (Abraxis BioScience, Los Angeles, CA), paclitaxel(NCI) ((-)-(2R,3S)-3-benzoilamino-2-hidroxi-3-fenilpropionato de (1S,2R,3S,4S,5R,7S,8S,10R,13S)-4,10-diacetoxi-2-benzoiloxi-5,20-epoxi-1,7-dihidroxi-9-oxotax-11-en-13-ilo) (NCI(NIH)), paclitaxel (NeoPharm, Lake Bluff, IL) ((-)-(2R,3S)-3-benzoilamino-2-hidroxi-3-fenilpropionato de (1S,2R,3S,4S,SR,7S,8S,10R,13S)-4,10-diacetoxi-2-benzoiloxi-5,20-epoxi-1,7-dihidroxi-9-oxotax-11-en-13-ilo) (NeoPharm, Lake Bluff, IL), patupilona ((1S,3S,7S,10R,11S,12S,16R)-7,11-dihidroxi-8,8,10,12,16-pentametil-3-[(1E)-1-(2-metil-1,3-tiazol-4-il)prop-1-en-2-il]-4,17-dioxabicyclo[14.1.0] heptadecano-5,9-diona) (publicación de Estados Unidos n.º 2003/0104625, Novartis, Basilea, Suiza), PEG-paclitaxel (Enzo Pharmaceuticals, Long Island, NY), docetaxel hidrato ((-)-trihidrato de (2R,3S)-3-terc-butoxicarbonilamino-2-hidroxi-3-fenilpropionato de (1S,2S,3R,4S,5R,7S,8S,10R,13S)-4-acetoxi-2-benzoiloxi-5,20-epoxi-1,7,10-trihidroxi-9-oxotax-11-eno-13-ilo) (Sanofi-Aventis, Bridgewater, NJ), eleuterobina ((1R,4aR,6S,7S,10R,12aR)-11-(2-O-acetil-β-D-arabinopiranosiloximetil)-7,10-epoxi-1-isopropil-10-metoxi-4,7-dimetil-1,2,4a,5,6,7,10,12a-octahidrobencociclododecen-6-il éster del ácido 3-(1-metilimidazol-4-il)-2(E)-propenoico) (Bristol-Myers Squibb, Nueva York, NY), IDN-5390 (Indena, Milán, Italia), ixabepilona ((1S,3S,7S,10R,11S,12S,16R)-7,11-dihidroxi-8,8,10,12,16-pentametil-3-[(1E)-1-metil-2-(2-metil-1,3-tiazol-4-il)jetenil]-17-oxa-4-azabicyclo [14.1.0] heptadecano-5,9-diona) (Bristol-Myers Squibb, Nueva York, NY), KOS-1584 (Kosan Biosciences, Hayward, CA (B-M Squibb)), KOS-1803 (17-iso-oxazol 26-trifluoro-9,10-dehidro-12,13-desoxi-epotilona B) (Kosan Biosciences, Hayward, CA (B-M Squibb)), KOS-862 (Kosan Biosciences, Hayward, CA (B-M Squibb)); patentes de Estados Unidos números 6204388 y 6303342), larotaxel (4,10-diacetato 2-benzoato 13-[(2R,3S)-3-[(terc-butoxicarbonil)amino]-2-hidroxi-3-fenilpropionato] de 1-hidroxi-9-oxo-5β,20-epoxi-7β,19-ciclotax-11-eno-2α,4,10β,13α-tetrailo tetrahidratado) (Sanofi-Aventis, Bridgewater, NJ, publicaciones PCT números WO 95/26961 y WO 96/1259), ANG-1005 (conjugado de Angiopep-2/paclitaxel) (AngioChem, Montreal, Canadá, patente de Estados Unidos n.º 7557182), BMS-184476 (Bristol-Myers Squibb, Nueva York, NY, publicación EP n.º 639577), BMS-188797 (Bristol-Myers Squibb, Nueva York, NY), BMS-275183 (3'-terc-butyl-3'-N-terc-butiloxycarbonil-4-deacetil-

3'-defenil-3'-N-debenzoil-4-O-metiloxi-carbonil-paclitaxel) (Bristol-Myers Squibb, Nueva York, NY), BMS-310705 (Bristol-Myers Squibb, Nueva York, NY), BMS-753493 (Bristol-Myers Squibb, Nueva York, NY), cabazitaxel (4-acetato 2-benzoato 13-[(2R,3S)-3-[[[tercbutoxi]carbonil]amino]-2-hidroxi-3-fenilpropanoato] de 1-hidroxi-7 β ,10 β -dimetoxi-9-oxo-5 β ,20-epoxitax-11-eno-2 α ,4,13 α -trilo) (Sanofi-Aventis, Bridgewater, NJ), DHA-paclitaxel (Protarga, King of Prussia, PA, TAXOPREXIN®), disermolida ([3S-[3 α ,4 β ,5 β ,6 α (2R*,3Z,5R*,6R*,7S*,8Z,11R*,12S*,13S*,14S*,15R*,16E)]]-6-[14[(aminocarbonil)oxi]-2,6,12-trihidroxi-5,7,9,11,13,15-hexametil-3,8,16,18-nonadecatetraenil]tetrahidro-4-hidroxi-3,5-dimetil-2H-piran-2-ona) (Novartis, Basilea, Suiza, patentes de Estados Unidos con los números 4939168 y 5681847). Algunos de estos estimulantes de microtúbulos tienen un anillo de taxano en sus estructuras químicas; dichos compuestos que tienen un anillo de taxano se denominan en el presente documento "taxanos".

Las antraciclinas incluyen actinomicinas tales como actinomicida D (Dactinomicina: 2-amino-N,N'-bis[(6S,9R,10S,13R,18aS)-6,13-diisopropil-2,5,9-trimetil-1,4,7,11,14-pentaoxohexadecahidro-1H-pirrol[2,1-i][1,4,7,10,13] oxatetraazaciclohexadecin-10-il]-4,6-dimetil-3-oxo-3H-fenoxazina-1,9-dicarboxamida), bleomicina (clorhidrato de bleomicina: (3-[[[2'-(5S,8S,9S,10R,13S)-15-{6-amino-2-[(1S)-3-amino-1-[(2S)-2,3-diamino-3-oxopropil]amino]-3-oxopropil]-5-metilpirimidin-4-il]-13-[[[2R,3S,4S,5S,6S)-3-[[[2R,3S,4S,5R,6R)-4-(carbamoiloxi)-3,5-dihidroxi-6-(hidroximetil)tetrahidro-2H-piran-2-il]oxi]-4,5-dihidroxi-6-(hidroximetil) tetrahidro-2H-piran-2-il]oxi} (1H-imidazol-5-il)metil]-9-hidroxi-5-[(1R)-1-hidroxietyl]-8,10-dimetil-4,7,12,15-tetraoxo-3,6,11,14-tetraazapentadec-1-il]-2,4'-bi-1,3-tiazol-4-il]carbonil]amino]propil)(dimetil)sulfonio), clorhidrato de daunorrubicina (daunorrubicina: 8S-cis)-clorhidrato de 8-Acetil-10-((3-amino-2,3,6-trideoxi-alfa-L-lixo-hexopiranosil)oxi)-7,8,9,10-tetrahidro-6,8,11-trihidroxi-1-metoxi-5,12-naftacenediona), clorhidrato de doxorrubicina (doxorrubicina: (8S,10S)-clorhidrato de 10-[(3-amino-2,3,6-trideoxi- α -L-lixo-hexopiranosil)oxi]-8-glicolol-7,8,9,10-tetrahidro-6,8,11-trihidroxi-1-metoxi-5,12-naftacenediona) (Alza, Mountain View, CA), clorhidrato de idarrubicina ((7S,9S)-clorhidrato de 9-acetil-7,8,9,10-tetrahidro-6,7,9,11-tetrahidroxi-7-O-(2,3,6-trideoxi-3-amino- α -L-lixo-hexopiranosil)-5,12-naftacenediona) (Pfizer, Nueva York, NY, patentes de Estados Unidos números 4046878 y 4471052), y mitomicina ((1aS,8S,8aR,8bR)-6-amino-4,7-dioxo-1,1a,2,8,8a,8b-hexahidro-8a-metoxi-5-metilazirino[2,3:3,4]pirrolo[1,2- α]indol-8-ilmetilcarbato) (Kyowa-Hakko-Kirin, Tokio, Japón).

Cisplatino y gemcitabina son agentes quimioterapéuticos. Cisplatino o cis-diaminodicloroplatino(II) es un fármaco basado en platino utilizado para tratar diversos tipos de cánceres. El complejo cisplatino platino reacciona *in vivo*, uniéndose a y produciendo la reticulación del ADN, que estimula en última instancia la apoptosis. Gemcitabina es un análogo de nucleósido donde los átomos de hidrógeno de los carbonos 2' de la desoxicitidina están sustituidos por átomos de flúor. Como fluorouracilo y otros análogos de pirimidina, gemcitabina sustituye a citidina durante la replicación del ADN, que detiene el crecimiento tumoral ya que no se pueden unir nucleósidos adicionales al nucleósido "defectuoso", dando como resultado la apoptosis. Gemcitabina se comercializa como GEMZAR® por Eli Lilly and Company (Indianapolis, IN). En algunas realizaciones, una combinación para el tratamiento del cáncer de pulmón incluyendo el cáncer de pulmón no microcítico puede ser: U1-59 combinado con Erlotinib y cisplatino o gemcitabina y otro(s) agente(s).

Capecitabina (pencil[1-(3,4-dihidroxi-5-metil-tetrahidrofuran-2-il)-5-fluoro-2-oxo-1H-pirimidin-4-il]aminometanoato, Xeloda, Roche) es un agente quimioterapéutico administrado por vía oral. Capecitabina es un profármaco que se convierte enzimáticamente en 5-fluorouracilo en el tumor, donde inhibe la síntesis de ADN y retrasa el crecimiento del tejido tumoral. En algunas realizaciones, una combinación para el tratamiento de la enfermedad asociada con HER3 puede ser: U1-49, U1-53 o U1-59 combinado con un segundo agente como se describe en el presente documento (por ejemplo, lapatanib) y capecitabina para el tratamiento del cáncer, donde el cáncer es cáncer gastrointestinal, cáncer de páncreas, cáncer de próstata, cáncer de ovario, cáncer de estómago, cáncer de endometrio, cáncer de las glándulas salivales, cáncer de riñón, cáncer de colon, cáncer de tiroides, cáncer de vejiga, glioma, melanoma, cáncer de pulmón incluyendo cáncer de pulmón no microcítico, cáncer colorrectal y/o cáncer de mama incluyendo cáncer de mama metastásico. En algunos casos, dicha combinación puede administrarse tras el fracaso del tratamiento previo con antraciclina o taxano, por ejemplo.

Docetaxel (N-terc-butil éster de (2R,3S)-N-carboxi-3-fenilisoserina, 13-éster con 5,20-epoxi-1,2,4,7,10,13-hexahidroxitax-11-en-9-ona 4-acetato 2-benzoato, trihidrato) y paclitaxel ((2 α ,4 α ,5 β ,7 β ,10 β ,13 α)-4,10-bis(acetiloxi)-13-[[[2R,3S)-3-(benzoilamino)-2-hidroxi-3-fenilpropanoil]oxi]-1,7-dihidroxi-9-oxo-5,20-epoxitax-11-en-2-il be) son agentes quimioterapéuticos. Docetaxel está comercializado como Taxotere por Sanofi Aventis. Paclitaxel está comercializado como Taxol por Bristol-Myers Squibb. en la formulación de Taxol, paclitaxel se disuelve en Cremophor EL y etanol, como un agente de administración. Una formulación donde paclitaxel está unido a albúmina se comercializa como Abraxane. En algunas realizaciones, una combinación puede ser: U1-59 combinado con Erlotinib y docetaxel o paclitaxel y otro(s) agente(s) tales como trastuzumab, para el tratamiento del cáncer de pulmón incluyendo cáncer de pulmón no microcítico.

La inyección de liposomas de clorhidrato de doxorrubicina se comercializa como Doxil, una formulación de liposomas que comprende cloruro de doxorrubicina. En algunas realizaciones, una combinación puede incluir administrar U1-59 combinado con Erlotinib y una inyección de liposomas de clorhidrato de doxorrubicina, con o sin uno o más agentes diferentes tales como paclitaxel o agentes quimioterapéuticos basados en platino, para el tratamiento del cáncer de pulmón.

Clorhidrato de irinotecan hidratado (irinotecan: clorhidrato de (+)-(4S)-4,11-dietil-4-hidroxi-9-[(4-piperidinopiperidino)carboniloxi]-1H-pirano[3',4':6,7]indolizino[1-2-b]quinolina-3,14(4H,12H)-diona trihidratado) (Yakult, publicaciones EP números 137145 y 56692) se comercializa como Campto, Camptosar e Ircan. En algunas realizaciones, un tratamiento combinado puede incluir administrar U1-59 combinado con Erlotinib y clorhidrato de irinotecan hidratado, o U1-59 combinado con Erlotinib, clorhidrato de irinotecan hidratado, y uno o más de otros agente(s) tales como 5-FU(5'-desoxi-5-fluorouridina o 5-fluoro-2,4(1H,3H)-pirimidinadiona), folinato de calcio (ácido N-[4-[[[(2-amino-5-formil-1,4,5,6,7,8-hexahidro-4-oxo-6-pteridinil)metilamino]benzoil]-L-glutámico, sal de calcio (1:1)) o levofolinato de calcio ((-)-N-[4-[[[(6S)-2-amino-5-formil-1,4,5,6,7,8-hexahidro-4-oxo-6-pteridinil]methyl]amino]benzoil]-L-glutamato de calcio), para el tratamiento del cáncer de pulmón incluyendo cáncer de pulmón no microcítico.

Los agentes adicionales que se van a usar en las composiciones y métodos descritos en el presente documento, pueden ser estructuras artificiales o de origen natural que no son un anticuerpo, pero que tienen una actividad similar a la de un anticuerpo (por ejemplo, tienen una actividad similar a la de un anticuerpo).

Dichos agentes adicionales pueden ser agentes que inhiben, bloquean o reducen (actúan como antagonistas hacia), o, activan, estimulan o aceleran (actúan como agonistas hacia) una actividad de otras dianas, incluyendo, aunque no de forma limitativa aquellos que afectan al crecimiento celular y/o a las rutas de supervivencia, tales como inhibidores de PI3K, inhibidores de AKT, inhibidores de mTOR, inhibidores de RAF/B-RAF, inhibidores de RAS, inhibidores de MEK, inhibidores de los receptores de muerte que incluyen agonistas de DR4 y DR5 tales como los anticuerpos agonísticos dirigidos contra DR4 o DR5 (por ejemplo, cedelizumab, tigatuzumab, drozirumab, conatumumab), agonistas de PPAR gamma (por ejemplo, efatutazona, troglitazona, pioglitazona, rosiglitazona), inhibidores de c-MET, inhibidores de Hsp-90 e inhibidores de la telomerasa.

Dichos agentes adicionales pueden ser antiangiogénicos, incluyendo, aunque no de forma limitativa, antagonistas/inhibidores de VEGF (por ejemplo, bevacizumab, vandetanib).

Además, dichos agentes adicionales pueden ser inmunoterapéuticos tales como vacunas o agentes terapéuticos celulares.

Como se describe adicionalmente a continuación, estos y otros agentes pueden estar contenidos en las composiciones descritas en el presente documento, y puede administrarse en una variedad de formas, combinaciones y dosificaciones diferentes.

5. Composiciones

Este documento describe también composiciones farmacéuticas que comprenden un agente de unión a HER-3 como se describe en el presente documento, combinado con un segundo agente que se dirige contra otra proteína de la familia HER o es un compuesto quimioterapéutico, así como uno o más transportadores, diluyentes y/o adyuvantes farmacéuticamente aceptables. La expresión "composición farmacéutica", como se usa en el presente documento, se refiere a un compuesto o composición química capaz de inducir un efecto terapéutico deseado cuando se administra adecuadamente a un paciente (The McGraw-Hill Dictionary of Chemical Terms, Parker, Ed., McGraw-Hill, San Francisco (1985)). La potencia de las composiciones farmacéuticas proporcionadas en el presente documento se basa normalmente en la unión de la al menos una proteína de unión a HER-3. Esta unión puede conducir a una reducción de la transducción de la señal mediada por HER-3.

Un "transportador farmacéuticamente aceptable" (denominado también en el presente documento "excipiente" o "transportador") es un disolvente farmacéuticamente aceptable, un agente suspensor, un agente estabilizante, o cualquier otro vehículo farmacológicamente inerte para administrar uno o más compuestos terapéuticos (por ejemplo, proteínas de unión a HER) a un sujeto, que es no tóxico para la célula o mamífero que se expone al mismo a las dosificaciones y concentraciones empleadas. Los transportadores farmacéuticamente aceptables pueden ser líquidos o sólidos, y se pueden seleccionar con la manera de administración planificada a tener en cuenta a fin de proporcionar el volumen, la consistencia, y otras propiedades de transporte y químicas consistentes, cuando se combina con uno o más compuestos terapéuticos y cualesquiera otros componentes de una composición farmacéutica dada. Los transportadores farmacéuticamente aceptables típicos que no reaccionan perjudicialmente con aminoácidos incluyen, a modo de ejemplo y no de limitación: agua, suero salino, agentes de unión (por ejemplo, polivinilpirrolidona o hidroxipropilmetilcelulosa), cargas (por ejemplo, lactosa y otros azúcares, gelatina, o sulfato de calcio), lubricantes (por ejemplo, almidón, polietilenglicol, o acetato de sodio), disgregantes (por ejemplo, almidón o almidón glicolato de sodio), y agentes humectantes (por ejemplo, laurilsulfato sódico). Los transportadores farmacéuticamente aceptables incluyen también soluciones acuosas con pH tamponado o liposomas (vesículas pequeñas compuestas de diversos tipos de lípidos, fosfolípidos y/o tensioactivos que son útiles para la administración de un fármaco a un mamífero). Los ejemplos adicionales de transportadores farmacéuticamente aceptables incluyen tampones tales como fosfato, citrato y otros ácidos orgánicos, antioxidantes tales como ácido ascórbico, polipéptidos de bajo peso molecular (de menos de aproximadamente 10 restos), proteínas tales como albúmina de suero, gelatina o inmunoglobulinas, polímeros hidrófilos tales como polivinilpirrolidona, aminoácidos tales como glicina, glutamina, asparagina, arginina o lisina, monosacáridos, disacáridos y otros carbohidratos incluyendo glucosa, manosa o dextrinas, agentes quelantes, tales como EDTA, alcoholes azucarados tales como

manitol o sorbitol, contraiones formadores de sales tales como sodio, y/o tensioactivos no iónicos tales como TWEEN™, polietilenglicol (PEG), y PLURONICS™.

5 Los liposomas son vesículas que tienen una membrana formada de un material lipófilo y un interior acuoso que puede contener la composición que se va a administrar. Los liposomas pueden ser particularmente útiles debido a su especificidad y a la duración de la acción que ofrecen desde el punto de vista de la administración del fármaco. Las composiciones de liposomas pueden estar formadas, por ejemplo, a partir de fosfatidilcolina, dimiristoil fosfatidilcolina, dipalmitoil fosfatidilcolina, dimiristoil fosfatidilglicerol, o dioleoil fosfatidiletanolamina. Están disponibles numerosos agentes lipófilos, incluyendo LIPOFECTIN® (Invitrogen/Life Technologies, Carlsbad, CA) y EFFECTENE™ (Qiagen, Valencia, CA).

15 Al menos uno de los agentes contenidos en una composición farmacéutica (por ejemplo, un agente de unión a HER-3 o un agente que se une y/o inhibe otro miembro de la familia HER) puede acoplarse a un efector tal como caliqueamicina, duocarmicinas, auristatinas, maitansinoides, un radioisótopo, o un agente quimioterapéutico tóxico tal como geldanamicina y maitansina. Dichos conjugados pueden ser particularmente útiles para dirigirse a células (por ejemplo, células cancerosas) que expresan HER-3.

20 La vinculación de proteínas de unión a radioisótopos puede proporcionar ventajas para los tratamientos tumorales. A diferencia de la quimioterapia y otras formas de tratamiento del cáncer, la radioinmunoterapia o la administración de una combinación de proteína de unión a radioisótopo puede dirigirse directamente a células cancerosas con daño mínimo al tejido sano y normal circundante. Con esta "poción mágica" los pacientes pueden tratarse con cantidades de radioisótopos mucho más pequeñas que otras formas de tratamiento disponibles actualmente. Los radioisótopos adecuados incluyen, por ejemplo, itrio⁹⁰ (⁹⁰Y), indio¹¹¹ (¹¹¹In), ¹³¹I, ^{99m}Tc, radioplatina-111, radioplatina-199, y bismuto²¹³. El enlace de los radioisótopos con las proteínas de unión puede llevarse a cabo con, por ejemplo, quelatos bifuncionales convencionales. Como la plata es monovalente, para el enlace de la radioplatina-111 y la radioplatina-199, pueden utilizarse enlazadores basados en azufre (Hazra et al. (1994) Cell Biophys. 24-25:1-7). El enlace de los radioisótopos de plata puede implicar reducir la inmunoglobulina con ácido ascórbico. Además, tiuxetan es un quelante enlazador de MX-DTPA unido a ibritumomab para formar ibritumomab tiuxetan (Zevalin) (Witzig (2001) Cancer Chemother. Pharmacol. 48 (Supl 1):91-95). Ibritumomab tiuxetan puede reaccionar con radioisótopos tales como indio¹¹¹(¹¹¹In) o ⁹⁰Y para formar ¹¹¹In-ibritumomab tiuxetan e ⁹⁰Y-ibritumomab tiuxetan, respectivamente.

35 Las proteínas de unión descritas en el presente documento, particularmente cuando se usan para tratar el cáncer, pueden conjugarse con fármacos quimioterapéuticos tóxicos tales como maitansinoides, (Hamann et al. (2002) Bioconjug. Chem. 13:40-46), geldanamycinoides (Mandler et al. (2000) J. Natl. Cancer Inst. 92:1549-1551) y maitansinoides, por ejemplo, el fármaco maitansinoide, DM1 (Liu et al. (1996) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93:8618-8623). Los enlazadores que liberan los fármacos en condiciones ácidas o reductoras o tras la exposición a proteasas específicas pueden emplearse con esta tecnología. Se puede conjugar una proteína de unión como se describe en la técnica.

40 Se puede conjugar una proteína de unión con auristatina-PE. Auristatina-PE, por ejemplo, es un agente antimicrotúbulo que es una modificación estructural del constituyente peptídico de un molusco marino sin concha, dolastatina 10. Auristatina-PE tiene actividad antitumoral y actividad vascular antitumoral (Otani et al. (2000) Jpn. J. Cancer Res. 91:837-44). Por ejemplo, auristatina-PE inhibe el crecimiento celular e induce la detención del ciclo celular y la apoptosis en líneas de células de cáncer de páncreas (Li et al. (1999) Int. J. Mol. Med. 3:647-53). Por consiguiente, para dirigirse específicamente a la actividad antitumoral y las actividades vasculares antitumorales de la auristatina-PE en tumores concretos, la auristatina-PE puede conjugarse a una proteína de unión como se describe en el presente documento.

50 Las composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento pueden contener también al menos un principio activo adicional. Los ejemplos de principios activos adicionales incluyen anticuerpos o inhibidores de bajo peso molecular de otras proteínas quinasas receptoras, tales como IGFR-1 y c-met, ligandos de receptores tales como el factor endotelial vascular (VEGF), agentes citotóxicos tales como doxorubicina, cisplatino o carboplatino, citoquinas, o agentes antineoplásicos. Se conocen en la técnica muchos agentes antineoplásicos. Se puede seleccionar un agente antineoplásico entre el grupo de proteínas terapéuticas que incluyen, aunque no de forma limitativa, anticuerpos y proteínas inmunomoduladoras. Se puede seleccionar un agente antineoplásico entre el grupo de moléculas pequeñas y agentes quimioterapéuticos consistentes en inhibidores mitóticos, inhibidores de quinasa, agentes alquilantes, antimetabolitos, antibióticos intercalantes, inhibidores de factor de crecimiento, inhibidores del ciclo celular, enzimas, inhibidores de topoisomerasa, inhibidores de la histona desacetilasa, agentes antiproliferación, modificadores de la respuesta biológica, antihormonas (por ejemplo, antiandrógenos), estimulantes de microtúbulos, antraciclina, y agentes antiangiogénesis. Cuando el agente antineoplásico es radiación, el tratamiento puede llevarse a cabo tanto con una fuente interna (por ejemplo, braquiterapia) como con una fuente externa (por ejemplo, radioterapia de rayos externa). El uno o más principio(s) activo(s) adicionales puede(n) administrarse con el agente de unión a HER3 y el segundo agente tanto de forma simultánea como separada, en una formación única o en formulaciones individuales (separadas) para cada principio activo.

65 Las composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento pueden ser especialmente útiles para el

diagnóstico, prevención, o tratamiento de una enfermedad hiperproliferativa. La enfermedad hiperproliferativa puede estar asociada con una transducción aumentada de la señal de la familia HER. En particular, la enfermedad puede estar asociada con una fosforilación aumentada de HER-3, y una formación aumentada del complejo entre HER-3 y otros miembros de la familia HER, una actividad aumentada de la PI₃ quinasa, una actividad aumentada de la quinasa del extremo c-jun y/o la actividad de AKT, una actividad aumentada de ERK2 y/o PYK2, o cualquier combinación de los mismos. La enfermedad hiperproliferativa puede, por ejemplo, seleccionarse entre el grupo consistente en cáncer de mama, cáncer gastrointestinal, cáncer de páncreas, cáncer de próstata, cáncer de ovario, cáncer de estómago, cáncer de endometrio, cáncer de las glándulas salivales, cáncer de pulmón, cáncer de riñón, cáncer de colon, cáncer colorrectal, cáncer de tiroides, cáncer de vejiga, glioma, melanoma, u otros cánceres que expresan o sobreexpresan HER-3, y la formación de metástasis tumorales.

Se pueden formular composiciones farmacéuticas mezclando uno o más principios activos con uno o más transportadores, diluyentes, y/o adyuvantes, y opcionalmente otros agentes que se incorporan usualmente en las formulaciones para proporcionar una transferencia, administración, tolerancia, y similares mejoradas. Se puede formular una composición farmacéutica, por ejemplo, en formulaciones liofilizadas, soluciones acuosas, dispersiones, o preparaciones sólidas, tales como comprimidos, grageas o cápsulas. Se pueden encontrar una multitud de formulaciones adecuadas en el formulario conocido por todos los químicos farmacéuticos: Remington's Pharmaceutical Sciences (18^a ed, Mack Publishing Company, Easton, PA (1990)), particularmente el Capítulo 87 del anterior por Block, Lawrence. Estas formulaciones incluyen, por ejemplo, polvos, pastas, pomadas, gelatinas, ceras, aceites, lípidos, lípidos (catiónicos o aniónicos) que contienen vesículas (tales como LIPOFECTIN™), conjugados de ADN, pastas de absorción anhidras, emulsiones de aceite en agua y de agua en aceite, emulsiones de carbowax (polietilenglicoles de diversos pesos moleculares), geles semisólidos, y mezclas semisólidas que contienen carbowax. Cualquiera de las anteriores mezclas puede ser adecuada en los tratamientos y terapias que se describen en el presente documento, con la condición de que el principio activo en la formulación no sea inactivado por la formulación y la formulación sea fisiológicamente compatible y tolerable con la ruta de administración. Véase, además, Baldrick (2000) Regul. Toxicol. Pharmacol. 32:210-218; Wang (2000) Int. J. Pharm. 203:1-60; Charman (2000) J. Pharm. Sci. 89:967-978; y Powell et al. (1998) PDA J. Pharm. Sci. Technol. 52:238-311), y las citas del anterior para la información adicional relacionada con las formulaciones, excipientes y transportadores bien conocidos por los químicos farmacéuticos.

Este documento pertenece también al uso de al menos un agente (por ejemplo, una proteína de unión a HER-3 aislada) como se describe en el presente documento, y al menos un principio activo diferente (por ejemplo, un agente que se une a otro miembro de la familia HER o un compuesto quimioterapéutico) en premezcla con transportadores, diluyentes y/o adyuvantes farmacéuticamente aceptables, para la fabricación de una composición farmacéutica para el diagnóstico, prevención o tratamiento de una enfermedad hiperproliferativa (por ejemplo, una enfermedad asociada con HER-3). La composición farmacéutica puede ser una composición farmacéutica como se describe en el presente documento, y la enfermedad hiperproliferativa puede ser una enfermedad hiperproliferativa como se describe en el presente documento.

Los métodos para formular y administrar posteriormente composiciones terapéuticas son bien conocidos por los expertos en la materia. La dosificación generalmente es dependiente de la gravedad y la sensibilidad del estado de enfermedad que se va a tratar, con una duración del ciclo de tratamiento de algunos días a algunos meses o hasta que se efectúa una cura o se consigue una disminución del estado de enfermedad. Las personas normalmente expertas en la técnica determinan de forma rutinaria las dosificaciones óptimas, metodologías de dosificación y tasas de repetición. Las dosificaciones óptimas pueden variar dependiendo de la potencia relativa de los polipéptidos individuales, y pueden estimarse generalmente basándose en la CE₅₀ que se encuentra que es eficaz en modelos animales *in vitro* e *in vivo*. Típicamente, la dosificación es de 0,1 µg a 100 mg por kg de peso corporal, y puede proporcionarse una vez o más diariamente, bisemanalmente, semanalmente, mensualmente o incluso menos a menudo. Tras un tratamiento satisfactorio, puede ser deseable hacer que el paciente se someta a un tratamiento de mantenimiento para prevenir la recurrencia del estado de enfermedad.

Se pueden administrar las composiciones farmacéuticas mediante numerosos métodos, dependiendo de si se desea un tratamiento local o sistémicos y sobre la zona que se va a tratar. La administración puede ser, por ejemplo, tópica (por ejemplo, transdérmica, sublingual, oftálmica, o intranasal); pulmonar (por ejemplo, mediante inhalación o insuflación de polvos o aerosoles); oral; o parenteral (por ejemplo, mediante inyección subcutánea, intratecal, intraventricular, intramuscular, o intraperitoneal, o mediante goteo intravenoso). La administración puede ser rápida (por ejemplo, mediante inyección) o se puede producir en un periodo de tiempo (por ejemplo, mediante infusión o administración lenta de formulaciones de liberación lenta). Para tratar tejidos del sistema nervioso central, se pueden administrar proteínas de unión a HER-3 mediante inyección o infusión en el fluido cerebro espinal, normalmente con uno o más agentes capaces de promover la penetración de los polipéptidos a través de la barrera hematoencefálica.

Las composiciones y formulaciones para administración intratecal o intraventricular pueden incluir soluciones acuosas estériles, que pueden contener también tampones, diluyentes y otros aditivos adecuados (por ejemplo, potenciadores de la penetración, compuestos transportadores y otros transportadores farmacéuticamente aceptables).

Las composiciones farmacéuticas incluyen, sin limitación, soluciones, emulsiones, suspensiones acuosas, y formulaciones que contienen liposomas. Estas composiciones pueden generarse a partir de una variedad de componentes que incluyen, por ejemplo, líquidos preformados, sólidos autoemulsionantes y semisólidos autoemulsionantes. Las emulsiones son a menudo sistemas bifásicos que comprenden dos fases líquidas
 5 inmiscibles mezcladas y dispersadas íntimamente entre sí; en general, las emulsiones son de una variedad tanto de agua en aceite (a/ac) como de aceite en agua (ac/a). Las formulaciones en emulsión se han utilizado ampliamente para la administración oral de agentes terapéuticos debido a su facilidad de formulación y eficacia de solubilización, absorción, y biodisponibilidad.

10 Los agentes de unión a HER pueden abarcar adicionalmente cualesquiera sales, ésteres, o las sales de dichos ésteres farmacéuticamente aceptables, o cualquier otro compuesto que, tras la administración a un animal, incluyendo un ser humano, sea capaz de proporcionar (de forma directa o indirecta) el metabolito biológicamente activo o un resto del mismo. Por consiguiente, por ejemplo, este documento proporciona sales de moléculas pequeñas y polipéptidos, profármacos y sales farmacéuticamente aceptables de dichos profármacos, y otros
 15 bioequivalentes. El término "-profármaco" indica un agente terapéutico que se prepara en una forma inactiva y se convierte en una forma activa (es decir, un fármaco) en el cuerpo o células del mismo mediante la acción de enzimas endógenas u otros compuestos químicos y/o condiciones. El término "sales farmacéuticamente aceptables" se refiere a sales fisiológica y farmacéuticamente aceptables de los polipéptidos proporcionados en el presente documento (es decir, las sales que retienen la actividad biológica deseada del polipéptido progenitor sin impartir
 20 efectos toxicológicos no deseados). Los ejemplos de sales farmacológicamente aceptables incluyen, aunque no de forma limitativa, sales formadas con cationes (por ejemplo, sodio, potasio, calcio, o poliaminas tales como espermina); sales de adición de ácido formadas con ácidos inorgánicos (por ejemplo, ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, o ácido nítrico); y sales formadas con ácidos orgánicos (por ejemplo, ácido acético, ácido cítrico, ácido oxálico, ácido palmítico, o ácido fumárico).

25 Se describen en el presente documento composiciones farmacéuticas que contienen (a) uno o más agentes de unión a HER-3; (b) uno o más agentes que se unen a otro miembro de la familia HER; y (c) uno o más agentes diferentes que funcionan mediante un mecanismo diferente. Por ejemplo, uno o más agentes de (c) son intercambiables con aquellos de (b); fármacos antiinflamatorios, incluyendo, aunque no de forma limitativa, fármacos antiinflamatorios no esteroideos y corticoesteroides, y fármacos antivíricos, incluyendo, aunque no de forma limitativa, ribivirina, vidarabina, aciclovir y ganciclovir, se pueden incluir en las composiciones. Otros agentes no polipeptídicos (por ejemplo, agentes quimioterapéuticos) están también en el alcance de este documento. Dichos
 30 compuestos combinados se pueden usar juntos o secuencialmente.

35 Las composiciones pueden contener adicionalmente otros componentes complementarios que se encuentran convencionalmente en las composiciones farmacéuticas. Por lo tanto, las composiciones pueden incluir también materiales compatibles, materiales farmacéuticamente activos tales como, por ejemplo, antipruríticos, astringentes, anestésicos locales o agentes antiinflamatorios, o materiales adicionales útiles para formular físicamente diversas formas farmacéuticas de las composiciones proporcionadas en el presente documento, tales como colorantes,
 40 agentes aromatizantes, conservantes, antioxidantes, opacantes, agentes espesantes y estabilizantes. Además, la composición puede mezclarse con agentes auxiliares, por ejemplo, lubricantes, conservantes, estabilizantes, agentes humectantes, emulsionantes, sales para variar la presión osmótica, tampones, colorantes, aromatizantes, y sustancias aromáticas. Cuando se añaden, sin embargo, dichos materiales no deben interferir de forma indebida con las actividades biológicas de los componentes polipeptídicos en las composiciones proporcionadas en el presente
 45 documento. Las formulaciones pueden esterilizarse si se desea.

Las formulaciones farmacéuticas, que pueden presentarse convenientemente en una forma farmacéutica, pueden prepararse de acuerdo con las técnicas convencionales bien conocidas en la industria farmacéutica. Dichas técnicas incluyen la etapa de poner en asociación los principios activos (por ejemplo, los agentes de unión de la familia HER
 50 proporcionados en el presente documento) con el(los) transportador(es) o excipiente(s) farmacéuticos deseados. Típicamente, las formulaciones pueden prepararse uniformemente y poner los principios activos en íntima asociación con transportadores líquidos o transportadores sólidos finamente divididos o ambos, y a continuación, en caso necesario, conformar el producto. Las formulaciones pueden esterilizarse si se desea, con la condición de que el método de esterilización no interfiera con la eficacia del polipéptido contenido en la formulación.

55 Las composiciones descritas en el presente documento pueden formularse en cualquiera de muchas formas farmacéuticas posibles tales como, aunque no de forma limitativa, comprimidos, cápsulas, jarabes líquidos, geles blandos, supositorios, y enemas. las composiciones pueden también formularse como suspensiones en medios acuosos, no acuosos o mixtos. Las suspensiones acuosas pueden contener además sustancias que aumentan la viscosidad de la suspensión incluyendo, por ejemplo, carboximetilcelulosa sódica, sorbitol, y/o dextrano. Las suspensiones pueden contener también estabilizantes.

60 Se pueden combinar las proteínas de unión a HER con material de envasado y comercializarse como kits para el tratamiento de las enfermedades asociadas a HER-3. Son bien conocidos los componentes y métodos para producir artículos de fabricación. Los artículos de fabricación pueden combinar uno o más de los polipéptidos y compuestos que se muestran en las secciones anteriores. Además, el artículo de fabricación puede incluir además, por ejemplo,

tampones u otros reactivos de control para reducir o vigilar la formación del complejo inmunitario reducido. Se pueden incluir en dichos kits instrucciones que describan como los polipéptidos son eficaces para tratar las enfermedades asociadas con HER-3. Cualquiera de los primeros agentes, los segundos agentes y agentes adicionales podría administrarse en nanopartícula(s) o liposoma(s), o cualesquiera otras forma(s) adecuadas.

5

6. Métodos

Este documento describe también métodos para tratar o prevenir enfermedades y dolencias asociadas con la expresión de HER-3. Por ejemplo, un método puede incluir poner en contacto un sujeto o muestra biológica procedente de un sujeto (por ejemplo, un mamífero tal como un ser humano) con una proteína de unión a HER-3 en combinación con un segundo agente, como se describe en el presente documento. La muestra puede ser una célula que muestra la expresión de HER-3, tal como una célula tumoral, una muestra de sangre u otra muestra adecuada. El contacto puede producirse *in vivo*, tal como cuando una composición que contiene un agente de unión a HER-3 y un segundo agente que se une a otro miembro de la familia HER se administra a un sujeto que lo necesita. Las enfermedades o dolencias asociadas con la expresión de HER-3 que se pueden tratar utilizando los métodos descritos en el presente documento incluyen, por ejemplo, enfermedades hiperproliferativas tales como cáncer de mama, cáncer gastrointestinal, cáncer de páncreas, cáncer de próstata, cáncer de ovario, cáncer de estómago, cáncer de endometrio, cáncer de las glándulas salivales, cáncer de pulmón, cáncer de riñón, cáncer de colon, cáncer colorrectal, cáncer de tiroides, cáncer de vejiga, glioma, melanoma, cáncer renal, cáncer de mama metastásico, cáncer de pulmón no microcítico, carcinoma epidermoide, fibrosarcoma, melanoma, carcinoma nasofaríngeo, carcinoma escamocelular, y otros cánceres positivos para HER-3, que expresan o sobreexpresan HER-3.

10

15

20

25

30

El término "tratamiento o prevención", cuando se usa en el presente documento, se refiere tanto a un tratamiento terapéutico y profiláctico como a medidas preventivas, que se pueden usar para prevenir, ralentizar, o disminuir los efectos de una dolencia o trastorno patológico dirigido. Aquellos que necesitan de prevención o tratamiento pueden incluir aquellos que ya padecen el trastorno, así como para aquellos que tengan tendencia a desarrollar el trastorno, o aquellos en los que se va a prevenir el trastorno. El paciente que necesita prevención o tratamiento puede ser un paciente mamífero (es decir, cualquier animal clasificado como un mamífero, incluyendo seres humanos, animales domésticos y de granja, y animales de zoo, animales de competición, o mascotas, tales como perros, gatos, ganado, caballos, ovejas, cerdos, cabras, conejos, etc.) En algunas realizaciones, el paciente que necesita tratamiento es un paciente humano.

35

40

45

Los métodos para prevenir o tratar enfermedades o dolencias asociadas con la expresión de HER-3 en un paciente que los necesita pueden incluir administrar al paciente cantidades eficaces de al menos un agente de unión a HER-3 como se describe en el presente documento y al menos un agente diferente frente a otro miembro de la familia HER, o un compuesto quimioterapéutico (por ejemplo, al menos uno de los agentes "adicionales/suplementarios" descritos anteriormente, que son intercambiables con los segundos agentes que se unen a y/o inhiben otra familia HER). Dicho tratamiento puede, por ejemplo, inhibir el crecimiento, la migración o la invasión de células anómalas. El agente contra HER-3 y el al menos un agente diferente pueden administrarse simultáneamente (por ejemplo, cuando están contenidos en la misma composición, o por premezcla en una bolsa i.v. común), o por separado (por ejemplo, secuencialmente). Las enfermedades o dolencias asociadas con la expresión de HER-3 pueden tratarse utilizando los métodos proporcionados en el presente documento e incluyen, por ejemplo, las enfermedades hiperproliferativas relacionadas en el presente documento. El paciente que necesita de prevención o tratamiento puede ser un mamífero (por ejemplo, un ser humano, un animal doméstico o de granja, o un animal de zoo, de competición, o mascota, tal como un perro, gato, vaca, caballo, oveja, cerdo, cabra, o conejo). En algunos casos, el paciente es un paciente humano.

50

55

Como se usa en el presente documento, la expresión "cantidad eficaz" es una cantidad de un agente que da como resultado una disminución o estabilización en uno o más síntomas o características clínicas de la dolencia asociada a HER-3 que se está tratando. Por ejemplo, la administración de una cantidad eficaz de una composición como se describe en el presente documento puede dar como resultado la ralentización de la progresión del crecimiento tumoral, un tamaño tumoral disminuido, o una activación disminuida de HER-3 o de los biomarcadores sensibles a HER-3 (por ejemplo, Akt, HER-2, ERK, o EGF-R). La ralentización o disminución puede ser cualquier reducción en comparación con un valor previo (por ejemplo, un 5%, 10%, 20%, 25%, o más de una reducción del 25% en los síntomas o características). Una "cantidad eficaz" puede dar como resultado una enfermedad estable.

60

65

Además de los modos de administración clásicos de los potenciales agentes terapéuticos de las proteínas de unión, por ejemplo, mediante las formulaciones anteriormente mencionadas, pueden ser también útiles modalidades de administración recientemente desarrolladas. Por ejemplo, se ha notificado la administración local de un anticuerpo monoclonal marcado con ¹³¹I para el tratamiento de tumores cerebrales primarios tras extirpación quirúrgica. Además, la inyección estereotáctica intracerebral directa de anticuerpos monoclonales y sus fragmentos se está estudiando también clínica y preclínicamente. La perfusión hiperosmolar intracarótida es una estrategia experimental para dirigir anticuerpos monoclonales humanos conjugados con fármacos a neoplasias malignas en el cerebro primario.

Tal como se ha descrito anteriormente, la dosis de los agentes administrada puede depender de una variedad de

factores. Estas incluyen, por ejemplo, la naturaleza de los agentes, el tipo de tumor, y la ruta de administración. Debe hacerse hincapié en que los presentes métodos no se limitan a ninguna dosis concreta. Se conocen en la técnica los métodos para determinar las dosis adecuadas, e incluyen aquellos descritos en los Ejemplos y los Ejemplos Comparativos en el presente documento.

5 Dependiendo del tipo y la gravedad de la dolencia que se va a tratar, se pueden administrar hasta aproximadamente 20 mg/kg de cada anticuerpo a un paciente que lo necesita, por ejemplo, mediante una o más administraciones separadas o mediante infusión continua. Una dosificación diaria típica puede variar entre aproximadamente 1 µg/día a aproximadamente 100 mg/día o más, dependiendo de los factores mencionados anteriormente. Para
10 administraciones repetidas a lo largo de varios días o un periodo mayor, dependiendo de la dolencia que se va a tratar, el tratamiento puede ser sostenido hasta que se produzca una supresión deseada de los síntomas de enfermedad.

15 Un método como se describe en el presente documento puede incluir analizar un marcador concreto (por ejemplo, HER-3) en una muestra biológica procedente de un sujeto para determinar si el sujeto tiene una enfermedad asociada con la expresión de HER-3. dichos métodos se pueden usar para seleccionar sujetos que tienen enfermedades asociadas con HER-3. En dichos métodos, la etapa de análisis puede llevarse a cabo antes de la etapa de administración, y dicho cribado de pacientes puede evitar tratamiento que probablemente no sean eficaces. Por lo tanto, en algunos casos, los métodos descritos en el presente documento pueden incluir además detectar un
20 antígeno de HER-3 en o sobre una célula, para la determinación de la concentración de un antígeno de HER-3 en pacientes que padecen de una enfermedad hiperproliferativa como se ha mencionado anteriormente, o para la estadificación de una enfermedad hiperproliferativa en un paciente. Para estadificar la progresión de una enfermedad hiperproliferativa en un sujeto bajo estudio, o para caracterizar la respuesta del sujeto a un curso de tratamiento, puede tomarse una muestra de sangre del sujeto y puede determinarse la concentración del antígeno de HER-3 presente en la muestra. La concentración obtenida de esta manera puede utilizarse para identificar en qué
25 intervalo de concentraciones se encuentra el valor. El intervalo identificado de esta manera puede correlacionarse con una etapa de progresión o una etapa de tratamiento identificada en las diversas poblaciones de sujetos diagnosticados, proporcionado así una etapa para el sujeto en estudio. Una biopsia de la enfermedad, por ejemplo, de tejido canceroso, obtenida del paciente también puede utilizarse para evaluar la cantidad de antígeno de HER-3 presente. La cantidad de antígeno de HER-3 presente en el tejido de la enfermedad puede evaluarse utilizando, por ejemplo, inmunohistoquímica, ELISA o una matriz de anticuerpos utilizando anticuerpos dirigidos contra HER-3 como se describe en el presente documento. Otros parámetros de interés diagnóstico son el estado de dimerización así como las moléculas asociadas a la dimerización de la proteína HER-3 y el estado de activación de esta y sus moléculas asociadas. Los métodos analíticos de proteínas para determinar aquellos parámetros son bien conocidos
30 en la técnica y son entre otros las técnicas de la transferencia western y las técnicas de inmunoprecipitación, el análisis FACS, la reticulación química, la transferencia de energía de resonancia de bioluminiscencia (BRET), la transferencia de energía de resonancia de fluorescencia (FRET) y similares (por ejemplo, Price et al. (2002) Methods Mol. Biol. 218:255-268, o la tecnología eTag (documentos WO 05/03707, WO 04/091384 y WO 04/011900).

40 En algunos casos, un método como se describe en el presente documento puede incluir una o más etapas para vigilar el resultado terapéutico del tratamiento. Por ejemplo, se puede vigilar un sujeto para los síntomas de su enfermedad, para determinar si se ha producido una reducción en los síntomas. se puede vigilar también al sujeto, por ejemplo, para los efectos secundarios potenciales del tratamiento. La vigilancia puede llevarse a cabo tras la etapa de administración, y, en algunas realizaciones, puede llevarse a cabo múltiples veces (por ejemplo, entre
45 administraciones, si las dosificaciones se proporcionan más de una vez). Dichos métodos pueden utilizarse para evaluar la eficacia y seguridad de los métodos de tratamiento descritos en el presente documento, por ejemplo.

La invención se describirá adicionalmente en los siguientes ejemplos, que no limitan el alcance de la invención descrito en las reivindicaciones.

50 Ejemplos

Ejemplo 1: Antígeno de HER-3 y preparación de la línea de células

55 Se prepararon proteínas HER-3 recombinantes. Se clonó el ADNc del dominio extracelular de HER-3 (ECD) mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) de pcDNA3-HER-3 (vector de expresión con HER-3 de longitud completa, Wallasch et al. (1995) EMBO J. 14:4267-4275) con cebadores basados en la secuencia de HER-3 (n.º de registro GeneBank NM_001982): Cebador directo: 5'-CGGGATCCATGTCCTAGCCTAGGGGC-3' (SEQ ID NO: 233); Cebador inverso: 5'-GCTCTAGATTAATGATGATGATGATGATG TGTCTAACAGTCTTG-3' (SEQ ID
60 NO: 234).

El producto de la PCR se digirió con BamH1 y Xba1 y se ligó en pcDNA3 (Invitrogen) digerido con BamH1 y Xba1. Se transfectaron los plásmidos en células HEK293 utilizando un método CaPO₄. La proteína de fusión HER-3-HIS se purificó a partir de medio acondicionado recogido mediante cromatografía de afinidad Ni-NTA.

65 Se generaron células Rati HER-3 mediante transferencia génica retroviral. Brevemente, se sembraron células

GP+E 86 (3×10^5) en una placa de cultivo de 60 mm y se transfectaron con 2 $\mu\text{g/ml}$ de ADNc de un vector pLXSN o pLXSN-HER-3 (C. Wallasch, Tesis doctoral, Max-Planck Institute of Biochemistry, Martinsried, Alemania) utilizando el método del fosfato de calcio. Después de 24 horas, el medio se sustituyó con medio reciente y las células GP+E 86 se incubaron durante 4-8 horas. A continuación se incubaron las células Rat1 subconfluentes (2×10^5 células por placa de 6 cm) con sobrenadantes de células GP+E 86 liberando títulos elevados de pLXSN o pLXSN-HER-3, virus p ($> 1 \times 10^6$ G418 u.f.c./ml; m.o.i. de 10) durante 4-12 horas en presencia de Polibreno (4 mg/ml; Aldrich). Tras cambiar el medio, se inició la selección de células Rat1 con G418. Normalmente, se repicaron clones estables tras la selección durante 21 días.

10 Ejemplo 2: Expresión de HER-3 en líneas de células de cánceres humanos

Se cuantificó la expresión de HER-3 en un panel de líneas de células de cánceres humanos para elucidar el papel de HER-3 en la formación del cáncer en seres humanos. Las líneas de células de cánceres se hicieron crecer como recomendaba la ATCC. De forma detallada, se recogieron 10^5 células con EDTA 10 mM en PBS, se lavaron una vez con tampón FACS (PBS FCS al 3%, azida al 0,4%) y se sembraron en una placa de fondo redondo de 96 pocillos. Las células se centrifugaron durante 3 minutos a 1000 rpm para eliminar el sobrenadante y a continuación se volvieron a suspender con anticuerpo 2D1D12 dirigido contra \square -HER-3 (WO03013602) (3 $\mu\text{g/ml}$). Se incubaron las suspensiones celulares en hielo durante 1 hora, se lavaron dos veces con tampón FACS, y se volvieron a suspender con anticuerpo secundario de burro (100 $\mu\text{l/pocillo}$) dirigido contra PE humana (Jackson) diluido 1:50 en tampón FACS. Las suspensiones celulares se incubaron en hielo en la oscuridad durante 30 minutos, se lavaron dos veces con tampón FACS y se analizaron (FACS, Beckman Coulter). Se expresó HER-3 en una variedad de líneas de células de cánceres humanos, incluyendo varias líneas de células de cánceres de mama, colon, epidermoide, melanoma, nasofaringe, ovario, páncreas, y próstata. Véase, las figuras de la publicación de Estados Unidos n.º 20080124345, que se han incorporado por tanto por referencia en su totalidad en el presente documento.

25 Ejemplo 3: Inmunización y titulación

La proteína HER-3 ECD que se preparó como se ha descrito en el Ejemplo 1 y las células C32 (Human melanoma; ATCC n.º CRL-1585) se usaron como antígeno. Se desarrollaron anticuerpos monoclonales dirigidos contra HER-3 inmunizando secuencialmente ratones XENOMOUSE® (variedades XMG1 y XMG4; Abgenix, Inc., Fremont, CA). Los animales XENOMOUSE® se inmunizaron mediante la almohadilla plantar para todas las inyecciones. El volumen total de cada inyección fue de 50 μl por ratón, 25 μl por almohadilla plantar.

Para la cohorte n.º 1 (ratones 10 XMG1), la inmunización inicial fue con 10 μg de proteína HER-3 ECD premezclada 1:1 (v/v) con TITERMAX GOLD® (Sigma, Oakville, ON) por ratón. Se prepararon los cinco refuerzos posteriores con 10 μg de proteína HER-3 ECD premezclada 1:1 (v/v) con 100 μg de gel de alum (Sigma, Oakville, ON) en D-PBS exento de pirógeno. El sexto refuerzo consistió en 10 μg de proteína HER-3 ECD premezclada 1:1 (v/v) con TITERMAX GOLD®. La séptima inyección consistió en 10 μg de proteína HER-3 ECD premezclada 1:1 v/v con 100 μg de gel de alum. Se realizó un refuerzo final con 10 μg de proteína HER-3 ECD en DPBS exento de pirógeno, sin adyuvante. Los ratones XENOMOUSE® se inmunizaron en los días 0, 4, 7, 11, 15, 20, 24, y 29 para este protocolo, y se llevaron a cabo las fusiones en el día 33. Las dos extracciones se realizaron mediante un procedimiento de exsanguinación retroorbital en el día 13 después del cuarto refuerzo y en el día 19 después del sexto refuerzo. No hubo cohorte n.º 2. Para la cohorte n.º 3 (ratones 10 XMG1) y la cohorte n.º 4 (ratones 10 XMG4), la primera inyección fue con 10^7 células C32 en PBS de Dulbecco exento de pirógeno (DPBS) premezclado 1:1 (v/v) con TITERMAX GOLD® por ratón. Los siguientes cuatro refuerzos fueron con 10^7 células C32 en DPBS exento de pirógeno, premezclado con 25 μg de Adju-Phos y 10 μg de CpG por ratón. El sexto refuerzo fue con 10^7 células C32 en DPBS exento de pirógeno, premezclado 1.1 (v/v) con TITERMAX GOLD® por ratón. El séptimo, octavo, y noveno refuerzos fueron con 10^7 células C32 en DPBS exento de pirógeno, premezclado con 25 μg de Adju-Phos y 10 μg de CpG por ratón. El décimo a decimo catorce refuerzos fueron con 5 μg de proteína HER-3 ECD en DPBS exento de pirógeno, premezclado con 25 μg de Adju-Phos y 10 μg de CpG por ratón. Un refuerzo final consistió en 5 μg de proteína HER-3 ECD en DPBS exento de pirógeno, sin adyuvante. Para ambas cohortes n.º 3 y n.º 4, se inmunizaron los ratones en los días 0, 3, 7, 11, 14, 17, 21, 24, 28, 33, 35, 38, 42 y 45, y se llevaron a cabo las fusiones en el día 49. Las tres extracciones se realizaron mediante un procedimiento de exsanguinación retroorbital en el día 12 después del cuarto refuerzo, en el día 19 después del sexto refuerzo, y en el día 40 después del duodécimo refuerzo.

Selección de animales para la recogida por título: Para la cohorte n.º 1, se determinaron los títulos del anticuerpo dirigido contra HER-3 en el suero de ratones inmunizados mediante ELISA frente a la proteína HER-3 ECD. se determinó el título específico de cada animal XENOMOUSE® a partir de la densidad óptica a 650 nm, y se muestra en la TABLA 1 siguiente. El valor del título es el recíproco de la dilución mayor de sueros con una lectura de DO de dos veces la del fondo. Por lo tanto, cuanto mayor sea el número, mayor será la respuesta inmunohumoral a HER-3 ECD.

TABLA 1

<i>Cohorte n.º 1, XMG1</i>		
ID de ratón	Después de 4 inyecciones.	Después de 6 inyecciones
P3421	8.000	11.000
P3422	850	2.600
P3423	2.700	5.200
P3424	3.200	9.100
P3425	5.400	2.500
P3426	700	1.500
P3427	5.800	7.000
P3428	3.900	4.300
P3429	2.200	2.500
P34210	600	850
NC	250	175
PC	377.000	311.000
NC	mAb IL-8 D39 2.1	
PC	xHER-3-2D1D12	

5 Para las cohortes n.º 3 y n.º 4, se determinaron los títulos de anticuerpo dirigido contra HER-3 en el suero de ratones inmunizados mediante FACS utilizando células Rat1/HER-3 (línea de células positiva para antígeno) y células Rat1/pLSXN (línea de células negativa para antígeno). Se muestran los datos en las TABLAS 2 y 3 y se presentan como media geométrica (GeoMan) de la intensidad de la fluorescencia de las células de la tinción celular dirigida contra HER-3 por las diluciones en serie de las muestras de suero.

TABLA 2

<i>Cohorte n.º 3, XMG1</i>					
ID Ratón	Muestra	Después de 6 inyecciones		Después de 12 inyecciones	
		MedGeom Cel pos	MedGeom Cel neg	MedGeom Cel pos	MedGeom Cel neg
Q832-1	1:50	9	10	11	10
	1:250	6	9	6	6
	1:1250	6	7	4	4
Q832-2	1:50	8	10	29	42
	1:250	7	8	11	11
	1:1250	5	6	6	5
Q832-3	1:50	7	12	11	9
	1:250	5	7	5	5
	1:1250	5	5	4	4
Q832-4	1:50	6	10	9	9
	1:250	6	6	5	5
	1:1250	5	5	4	4
Q832-5	1:50	11	11	17	13
	1:250	10	9	7	6
	1:1250	6	8	5	4
Q832-6	1:50	7	11	15	14

<i>Cohorte n.º 3, XMG1</i>					
ID Ratón	Muestra	Después de 6 inyecciones		Después de 12 inyecciones	
		MedGeom Cel pos	MedGeom Cel neg	MedGeom Cel pos	MedGeom Cel neg
	1:250	7	7	7	6
	1:1250	5	6	6	4
Q832-7	1:50	8	11	7	15
	1:250	6	7	5	5
	1:1250	5	5	4	4
Q832-8	1:50	7	8	11	20
	1:250	6	6	7	8
	1:1250	5	5	5	4
Q832-9	1:50	7	12	15	16
	1:250	6	8	6	5
	1:1250	6	6	4	4
Q832-10	1:50	8	13	34	38
	1:250	6	8	9	8
	1:1250	6	6	5	4

TABLA 3

<i>Cohorte n.º 4, XMG4</i>					
ID Ratón	Muestra	Después de 6 inyecciones		Después de 12 inyecciones	
		MedGeom Cel pos	MedGeom Cel neg	MedGeom Cel pos	MedGeom Cel neg
Q856-1	1:50	4	6	91	44
	1:250	4	5	32	18
	1:1250	4	4	19	10
Q856-2	1:50	4	8	148	54
	1:250	4	5	89	23
	1:1250	4	4	42	9
Q856-3	1:50	4	5	72	14
	1:250	4	4	28	6
	1:1250	4	4	18	4
Q856-4	1:50	4	5	11	49
	1:250	4	5	10	17
	1:1250	4	4	8	7
Q856-5	1:50	4	4	74	20
	1:250	4	4	30	14
	1:1250	4	4	16	6

Cohorte n.º 4, XMG4					
ID Ratón	Muestra	Después de 6 inyecciones		Después de 12 inyecciones	
		MedGeom Cel pos	MedGeom Cel neg	MedGeom Cel pos	MedGeom Cel neg
Q856-6	1:50	4	5	86	21
	1:250	4	4	32	10
	1:1250	4	4	16	5
Q856-7	1:50	5	6	74	32
	1:250	4	5	32	14
	1:1250	4	4	16	6
Q856-8	1:50	4	5	106	14
	1:250	4	4	45	6
	1:1250	4	4	22	4
Q856-9	1:50	5	6	53	22
	1:250	4	4	17	11
	1:1250	4	4	11	5
Q856-10	1:50	4	5	72	53
	1:250	4	4	26	17
	1:1250	4	4	15	7

Ejemplo 4: Recuperación de linfocitos, Aislamiento de linfocitos B, Fusiones y generación de hibridomas

- 5 Se sacrificaron ratones inmunizados y se extrajeron los ganglios linfáticos y se combinaron los de cada cohorte. Se disociaron las células linfáticas triturándolos en DMEM para liberar las células de los tejidos, y se suspendieron las células en DMEM. Se contaron las células, y se añadieron 0,9 ml de DMEM por 100 millones de linfocitos al aglomerado de células para resuspender las células suave, pero completamente. Utilizando 100 µl de CD90+ perlas magnéticas por 100 millones de células, se marcaron las células incubando las células con las perlas magnéticas a 4°C durante 15 minutos. La suspensión de células marcada magnéticamente que contenía hasta 10⁶ células positivas (o hasta 2x10⁹ células totales) se cargó sobre una columna LS+ y la columna se lavó con DMEM. Se recogió el efluente total como la fracción negativa para CD90 (la mayoría de estas células se esperaba que fueran linfocitos B).
- 10
- 15 La fusión se llevó a cabo mezclando los linfocitos B enriquecidos lavados con las anteriores células P3X63Ag8.653 de mieloma no secretoras adquiridas de la ATCC (n.º de catálogo, CRL 1580) (Kearney et al. (1979) J. Immunol. 123:1548-1550) a una relación de 1:1. La mezcla de células se aglomeró suavemente mediante centrifugación a 800 g. Tras la eliminación completa del sobrenadante, las células se trataron con 2 a 4 ml de solución de pronasa, (CalBiochem, n.º de catálogo 53702; 0,5 mg/ml en PBS) durante no más de 2 minutos. A continuación se añadieron 3 a 5 ml de FBS para detener la actividad de la enzima, y se ajustó la suspensión a un volumen total de 40 ml la solución de fusión electrocelular, ECFS (sacarosa 0,3 M, Sigma, n.º de catálogo S7903, acetato de magnesio 0,1 mM, Sigma, n.º de catálogo M2545, acetato de calcio 0,1 mM, Sigma, n.º de catálogo C4705). Se retiró el sobrenadante tras la centrifugación y las células se volvieron a suspender en 40 ml de ECFS. Se repitió esta etapa de lavado y las células se volvieron a suspender de nuevo en ECFS a una concentración de 2x10⁶ células/ml.
- 20
- 25 Se llevó a cabo la fusión electrocelular utilizando un generador de fusión, modelo ECM2001, Genetronic, Inc., San Diego, CA. El tamaño de la cámara de fusión era de 2,0 ml y se utilizaron los siguientes parámetros de ajuste del instrumento: Condiciones de alineación: voltaje: 50 V, tiempo: 50 segundos; rotura de membrana: voltaje: 3000 V, tiempo: 30 µs; tiempo de espera después de la fusión: 3 segundos.
- 30 Después de ECF, se retiraron las suspensiones de células de la cámara de fusión en condiciones estériles y se transfirieron en un tubo estéril que contenía el mismo volumen de medio de cultivo de hibridoma (DMEM (JRH Biosciences), FBS al 15% (Hyclone), suplementado con L-glutamina, pen/strep, OPI (oxaloacetato, piruvato, insulina de bovino) (todo de Sigma) e IL-6 (Boehringer Mannheim). Se incubaron las células durante 15 a 30 minutos a 37°C, y a continuación se centrifugaron a 400 g durante cinco minutos. Las células se volvieron a suspender suavemente en un pequeño volumen de medio de selección de hibridoma (Hybridoma Culture Medium suplementado con 0,5x HA (Sigma, n.º de catálogo. A9666)), y el volumen se ajustó adecuadamente con más medio de selección de hibridoma, basándose en una siembra en placas final de 5x10⁶ linfocitos B por placa de 96 pocillos y 200 µl por pocillo. Las células se mezclaron y pipetearon suavemente en placas de 96 pocillos y se dejaron crecer. En el día 7 o 10, se retiró la mitad del medio, y las células se volvieron a alimentar con medio de selección de hibridoma.
- 35
- 40

Ejemplo 5: Selección de los anticuerpos candidatos mediante ELISA

Después de 14 días de cultivo, se llevó a cabo el cribado primario de los sobrenadantes de hibridomas de la cohorte n.º 1 (los ratones en la cohorte uno se dividieron arbitrariamente en la fusión n.º 1 y n.º 2) para los anticuerpos específicos de HER-3 mediante ELISA utilizando HER-3 ECD etiquetada con his purificada y contracribado frente a una proteína irrelevante etiquetada con his mediante ELISA utilizando HRP de cabra dirigido contra hulgGfC (Caltag Inc., n.º de catálogo H10507, utilizando una concentración, la dilución fue 1:2000) para detectar la unión de IgG a la HER-3 ECD inmovilizada sobre placas ELISA. Se retiraron los sobrenadantes de cultivos viejos de pocillos con células de hibridoma positivas en crecimiento en un cribado primario, y las células de hibridoma positivas para HER-3 se suspendieron con medio de cultivo de hibridoma reciente y se transfirieron a placas de 24 pocillos. Después de 2 días en cultivo, estos sobrenadantes se utilizaron durante un cribado de confirmación secundario. En el cribado de confirmación secundario de los anticuerpos IgGk completamente humanos, específicos de HER-3, se cribaron los positivos en el primer cribado mediante ELISA con dos conjuntos de anticuerpos detectores: HRP de cabra dirigido contra hulgGfC (Caltag Inc., n.º de catálogo H10507, utilizando una dilución 1:2000) para la detección de la cadena gamma humana, y HRP de cabra dirigido contra hlg kappa (Southern Biotechnology, n.º de catálogo 2060-05) para la detección de la cadena ligera kappa humana. A partir de la cohorte n.º 1.91 se generaron anticuerpos monoclonales específicos de HER-3 de IgG/kappa completamente humanos.

Ejemplo 6: Selección de anticuerpos candidatos mediante FMAT/FACS

Después de 14 días de cultivo, los sobrenadantes de hibridomas de las cohortes n.º 3 y n.º 4 (fusiones n.º 3 y n.º 4) se cribaron para los anticuerpos monoclonales específicos de HER-3 mediante FMAT. En el cribado primario, los sobrenadantes de hibridomas a la dilución 1:10 final se incubaron con células Rat1-HER-3 que expresaban HER-3 humana y 400 ng/ml de F(ab')₂ de cabra conjugado con Cy5 dirigido contra IgG humana, anticuerpos específico de Fc (Jackson ImmunoResearch, n.º de catálogo 109-176-098) a temperatura ambiente durante 6 horas. Se midieron la unión de anticuerpos y los anticuerpos de detección contra las células mediante FMAT (Applied Biosystems). Se determinó la unión no específica de anticuerpos para las células mediante su unión a células Rat1 progenitoras. Se seleccionaron un total de 420 anticuerpos específicos productores de hibridomas a partir del cribado primario de la fusión n.º 3. Los sobrenadantes de estos cultivos expandidos se ensayaron de nuevo utilizando el mismo protocolo FMAT, y se confirmó que 262 de los mismos se unían específicamente a células que expresaban HER-3. Un total de 193 anticuerpos específicos de HER-3 productores de hibridomas se seleccionaron a partir del cribado primario de la fusión n.º 4. Los sobrenadantes de estos cultivos expandidos se ensayaron mediante FACS y se confirmó que 138 de los mismos se unían específicamente a células que expresaban HER-3. En el ensayo FACS de confirmación, se incubaron células Rat1-XHER-3 y células Rat1 progenitoras (como control negativo) con sobrenadantes de hibridoma a una dilución 1:2 durante 1 hora a 40°C en PBS que contenía FBS al 2%. Tras el lavado con PBS, se detectó la unión de anticuerpos a las células mediante 2,5 µg/ml de F(ab')₂ de cabra conjugado con Cy5 dirigido contra IgG humana, anticuerpo específico de Fc (JIR n.º 109-176-098) y 5 µg/ml de F(ab')₂ de cabra conjugado con PE dirigido contra anticuerpos específico de kappa humano (SB n.º 2063-09). Tras retirar los anticuerpos no unidos lavando con PBS, se fijaron las células mediante cytofix (BD n.º 51-2090KZ) a una dilución 1:4 y se analizaron mediante FACSCalibur.

Ejemplo 7: Selección de hibridomas para clonación

Se seleccionaron anticuerpos de la cohorte n.º 1 para la clonación del hibridoma basándose en la especificidad de HER-3 sobre HER1 (EGF-R), HER-2 y HER-4 en ELISA utilizando dominios extracelulares recombinantes purificados (disponibles de, por ejemplo, R&D Biosystems, Mineápolis, MN), análisis basado en FACS de líneas de células tumorales humanas que expresan diferentes miembros de la familia HER, y un aumento > de 5 veces en la intensidad fluorescente media en la tinción FACS para las células positivas para HER-3 sobre el fondo. Basándose en estos criterios, se seleccionaron un total de 23 líneas de hibridomas para la clonación mediante siembra en placas con dilución limitante.

Se seleccionaron los anticuerpos de las cohortes 3 y 4 para la clonación del hibridoma basándose en la especificidad de HER-3 sobre HER-1 (EGF-R), HER-2 y HER-4 más tres criterios diferentes. El primer criterio fue un cribado mediante ELISA de anticuerpos con epítomos contenidos en el dominio L2 de HER-3 (véase el Ejemplo 8 a continuación).

El segundo criterio fue la neutralización de la unión de la heregulina alfa biotinilada para las células que expresan HER-3 en un ensayo basado en FACS. Se recogieron células SKBR-3, se lavaron en medio de cultivo, se aglomeraron mediante centrifugación y se volvieron a suspender en medio de cultivo. Las células resuspendidas se distribuyeron en alícuotas en placas de 96 pocillos. Se centrifugaron las placas para aglomerar las células. Se añadieron anticuerpos de ensayo a los sobrenadantes de hibridoma agotado a 25 µl/pocillo y se incubaron durante 1 hora en hielo para permitir la unión del anticuerpo. Se añadieron cincuenta µl de una solución de heregulina-alfa10 nM (R&D Biosystems) a cada pocillo para una concentración final de 5 nM y se incubaron en hielo durante 1,5 horas. Se lavaron las células en 150 µl de PBS, se aglomeraron mediante centrifugación y se eliminó el sobrenadante. Se volvieron a suspender las células en 50 µl de anticuerpo policlonal dirigido contra HRG-alfa a 10 µg/ml y se incubaron durante 45 minutos en hielo. Se lavaron las células en 200 µl de PBS, se aglomeraron mediante

centrifugación, y se eliminó el sobrenadante. Se añadieron cincuenta μl de una solución de anticuerpo de conejo marcado con Cy5 dirigido contra un anticuerpo policlonal de cabra a $5 \mu\text{g/ml}$ más 7AAD a $10 \mu\text{g/ml}$ y se incubaron en hielo durante 15 minutos. Se lavaron las células en $200 \mu\text{l}$ de PBS, se aglomeraron mediante centrifugación y se eliminó el sobrenadante. Se volvieron a suspender las células en $100 \mu\text{l}$ de tampón FACS y se leyeron en el FACS.

5 Los anticuerpos de ensayo dirigidos contra HER-3 que redujeron la unión de la heregulina-alfa son aquellos que tenían una intensidad de la fluorescencia más baja. Como controles positivos, se utilizaron diluciones en serie 1:5 de 10.000 ng/ml a 16 ng/ml de un mAb de HER-3 de ratón (105,5) o el mAb de HER-3 dirigido contra IgG1 humana, se utilizó U1-49. Los controles negativos fueron solo heregulina-alfa, solo células, anticuerpo de cabra solo dirigido contra anticuerpo policlonal de heregulina-alfa y anticuerpo de conejo solo dirigido contra anticuerpo policlonal de cabra marcado con Cy5.

15 El tercer criterio fue con respecto a la clasificación para la afinidad y/o la intensidad de la fluorescencia media relativa superior en FACS utilizando líneas de células que expresaban HER-3. Se llevó a cabo la clasificación relativa para la afinidad normalizando las concentraciones de anticuerpos específicas de HER-3 y representándolas gráficamente frente a los datos procedentes del ELISA de antígeno limitantes del siguiente modo.

20 *Normalización de las concentraciones de anticuerpos específicas de antígenos utilizando ELISA de antígenos elevado:* Utilizando un método ELISA, se normalizaron los sobrenadantes para la concentración del anticuerpo específico de antígeno. Utilizando dos anticuerpos IgG1 humanos dirigidos contra HER-3 de la cohorte 1 de una concentración conocida titulados en paralelo, se generó una curva patrón y las cantidades de anticuerpo específico de antígeno en los sobrenadantes del hibridoma de ensayo de las cohortes 3 y 4 se compararon con el patrón. De este modo, se estimó la concentración de anticuerpo IgG de HER-3 humano en cada cultivo de hibridoma.

25 Se prepararon placas de neutravidina revistiendo con neutravidina a $8 \mu\text{g/ml}$ en 1XPBS/azida de sodio al 0,05% sobre placas de unión de medio Costar 3368 a $50 \mu\text{l/pocillo}$ con incubación durante la noche a 4°C . Al día siguiente se bloquearon las placas con 1XPBS/leche desnatada al 1%. HER-3 ECD etiquetada con his fotobiotinilada a 500 ng/ml en 1XPBS/leche desnatada al 1% se unió a las placas de neutravidina incubando durante 1 hora a temperatura ambiente. El sobrenadante de hibridoma, diluido en serie 1:2,5 desde una dilución de partida de 1:31 a una dilución final de 1:7568 en 1XPBS/leche desnatada al 1%/azida al 0,05%, se añadió a $50 \mu\text{l/pocillo}$, y a continuación se incubó durante 20 horas a temperatura ambiente. Se utilizaron diluciones en serie para asegurar la obtención de lecturas de DO para cada valor desconocido en el intervalo lineal del ensayo. A continuación, se añadió un anticuerpo de detección secundario, Fc de cabra dirigido contra IgG humana HRP a 400 ng/ml en 1XPBS/leche desnatada al 1% a $50 \mu\text{l/pocillo}$. Después de 1 hora a temperatura ambiente, las placas se lavaron de nuevo 5 veces con agua y se añadieron $50 \mu\text{l}$ de sustrato TMB de un componente a cada pocillo. La reacción se detuvo después de 30 minutos mediante la adición de $50 \mu\text{l}$ de ácido clorhídrico 1 M a cada pocillo y se leyeron las placas a una longitud de onda de 450 nm . Se generó una curva patrón a partir de los dos mAb IgG1 HER-3 de la cohorte n.º 1, se diluyó en serie a 1:2 desde 1000 ng/ml a 0,06 y se evaluó en ELISA utilizando el anterior protocolo. Para cada valor desconocido, se utilizaron lecturas de DO en el intervalo lineal del ensayo para estimar la concentración de IgG HER-3 en cada muestra.

40 El análisis del antígeno limitado es un método que clasifica por afinidad los anticuerpos específicos de antígeno preparados en los sobrenadantes del cultivo de linfocitos B con respecto a todos los anticuerpos específicos de antígeno diferentes. En presencia de un revestimiento muy bajo de antígeno, solo los anticuerpos con afinidad más elevada deben poder unirse a cualquier nivel detectable en el equilibrio. (Véase por ejemplo, Publicación PCT n.º WO 03048730A2). En este caso, dos mAb de la cohorte n.º 1, ambos de concentración conocida y KD conocida, se utilizaron como bancos de pruebas en el ensayo.

50 Se prepararon placas de neutravidina revistiendo con neutravidina a $8 \mu\text{g/ml}$ en 1XPBS/azida de sodio al 0,05% sobre placas de unión de medio Costar 3368 a $50 \mu\text{l/pocillo}$ con incubación durante la noche a 4°C . Al día siguiente se bloquearon las placas con 1XPBS/leche desnatada al 1%. HER-3 ECD etiquetada con his biotilada ($50 \mu\text{l/pocillo}$) se unió a placas de neutravidina de 96 pocillos a cinco concentraciones: 125, 62,5, 31,2, 15,6, y $7,8 \text{ ng/ml}$ en 1XPBS/leche desnatada al 1% durante 1 hora a temperatura ambiente. Cada placa se lavó 5 veces con agua. Se añadieron sobrenadantes de hibridoma diluidos 1:31 en 1XPBS/leche desnatada al 1%/azida al 0,05% a $50 \mu\text{l/pocillo}$. Después de 20 horas de incubación a temperatura ambiente en un agitador, las placas se lavaron de nuevo 5 veces con dH_2O . A continuación, se añadió un anticuerpo de detección secundario, Fc de cabra dirigido contra IgG humana HRP (peroxidasa de rábano picante) a 400 ng/ml en 1XPBS/leche desnatada al 1% a $50 \mu\text{l/pocillo}$. Después de 1 hora a temperatura ambiente, las placas se lavaron de nuevo 5 veces con dH_2O y $50 \mu\text{l}$ de sustrato TMB de un componente a cada pocillo. La reacción se detuvo después de 30 minutos mediante la adición de $50 \mu\text{l}$ de ácido clorhídrico 1 M a cada pocillo y se leyeron las placas a una longitud de onda de 450 nm . Se usaron lecturas de DO de una concentración de antígeno que dieron como resultado valores de DO en el intervalo lineal para el análisis de datos.

65 Representación gráfica de datos de antígenos elevados (que estima comparativamente las concentraciones específicas de anticuerpos; véase anteriormente para los detalles) frente a la DO limitada de los antígenos ilustró que los anticuerpos tenían una afinidad relativamente superior, por ejemplo, aquellos que se unieron tenían una DO superior en el ensayo limitado de antígenos a la vez que tenían cantidades inferiores de anticuerpo IgG HER-3 en el

sobrenadante. Se continuó con los hibridomas de las cohortes n.º 3 y n.º 4 de los 33 mejores anticuerpos en estos conjuntos de ensayos para su clonación mediante siembra del hibridoma con dilución limitante.

5 Como alternativa, el análisis FACS de la expresión de HER-3 de las células Rat1/pLXSN y Rat1/HER-3 mostró resultados similares (no hubo reactividad cruzada con los epítomos de rata endógenos. De forma detallada, se recogieron 1×10^5 células con EDTA 10 mM en PBS, se lavaron una vez con tampón FACS (PBS, FCS al 3 %, azida al 0,4 %) y se sembraron en una placa de 96 pocillos de fondo redondo. Las células se centrifugaron durante 3 minutos a 1000 rpm para eliminar el sobrenadante y a continuación se volvieron a suspender con los anticuerpos específicos de la familia HER (3 µg/ml). Se incubaron las suspensiones celulares en hielo durante 45 minutos, se lavaron dos veces con tampón FACS, y se volvieron a suspender con anticuerpo secundario de burro (100 µl/pocillo) dirigido contra PE humana (Jackson) diluido 1:50 en tampón FACS. Las suspensiones celulares se incubaron en hielo en la oscuridad durante 30 minutos, se lavaron dos veces con tampón FACS y se analizaron (FACS, Beckman Coulter).

15 **Ejemplo 8: Análisis estructural de anticuerpos dirigidos contra HER-3**

La siguiente descripción proporciona información estructural relacionada con los anticuerpos preparados como se describe en el presente documento. A fin de analizar las estructuras de los anticuerpos, se amplificaron los genes que codifican los fragmentos de la cadena pesada y la cadena ligera del hibridoma concreto. Se llevó a cabo la secuenciación del siguiente modo:

20 Se amplificaron los transcritos V_H y V_L a partir de clones de hibridoma individuales en placas de 96 pocillos utilizando la reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (RT-PCR). Se aisló el ARNm de Poli(A)+ de aproximadamente 2×10^5 células de hibridoma usando un kit Fast-Track (Invitrogen). Se analizaron cuatro reacciones de la PCR para cada hibridoma: dos para la cadena ligera (κ (k) y dos para la cadena pesada γ (y). Para la amplificación se usó el kit de PCR QIAGEN OneStep a temperatura ambiente (Qiagen, n.º de catálogo 210212). En las reacciones de la PCR acopladas a temperatura ambiente, se sintetizaron ADNc con una mezcla de enzimas a temperatura ambiente (Omniscript y Sensiscript) utilizando el cebador específico de la secuencia de sentido contrario que correspondía a Ck, o a un consenso de las regiones CH1 de los genes Cy. Se llevó a cabo la transcripción inversa a 50°C durante 1 h seguida por la amplificación mediante la PCR del ADNc mediante la ADN polimerasa HotStarTaq para una alta especificidad y sensibilidad. Cada reacción de la PCR utilizó una mezcla de cebadores 5' de sentido directo; Las secuencias del cebador se basaban en las secuencias líder de V_H and V_K disponibles en el sitio web de Vbase (<http://vbase.mrc-cpe.cam.ac.uk/>).

35 Las reacciones de la PCR se analizaron a 94°C durante 15 min, comienzo inicial caliente seguido por 40 ciclos de 94°C durante 30 s (desnaturalización), 60°C durante 30 s (hibridación) y 72°C durante 1 min (alargamiento).

Los productos de la PCR se purificaron y se secuenciaron directamente utilizando cebadores de la PCR directos e inversos usando el Kit de reacción rápida de secuenciación del ciclo del terminador BigDye ABI PRISM (Perkin Elmer). Ambas hebras se secuenciaron utilizando los kits de secuenciación del terminador Prism dye y una máquina de secuenciación ABI 377.

45 Análisis de secuencias: Se llevaron a cabo los análisis de las secuencias de ADNc V pesada y V kappa humanas de los anticuerpos dirigidos contra HER-3 alineando las secuencias de HER-3 con las secuencias pesada V y kappa V germinales humanas utilizando el programa informático de fabricación propia Abgenix (5AS). El software identificó la utilización del gen V, el gen D y el gen J así como las inserciones de nucleótidos en las uniones de la recombinación y las mutaciones somáticas. También se generaron informáticamente secuencias de aminoácidos para identificar mutaciones somáticas. Podrían obtenerse resultados similares con un programa informático de análisis de secuencias comercialmente disponible e información públicamente disponible en la secuencia de los genes V, D, y J humanos, por ejemplo, Vbase (<http://vbase.mrc-cpe.cam.ac.uk/>).

50 Clonación molecular de mAb U1-59: Se extrajo el ARN total del pocillo de cultivo de tejido que contenía múltiples linajes de hibridoma, incluyendo el linaje de hibridoma que secreta el anticuerpo U1-59. Se amplificó una región variable de la cadena pesada utilizando los cebadores 5' específicos de la familia V_H líder, con el cebador 3'-C-gamma. Se amplificó una banda principal utilizando un cebador V_H4 , no fueron visibles otras bandas. Se clonó el fragmento V_H4 -34 gamma en el vector de expresión pCDNA en marco con un gen de la región constante gamma 1 humana.

60 Se amplificó una región variable de la cadena pesada de IgM utilizando cebadores específicos de la familia 5' V_H con el cebador de la región constante 3' mu. Se amplificó una banda principal utilizando el cebador V_H2 , no fueron visibles otras bandas. Se clonó el fragmento mu de V_H2 -5 en el vector de expresión pCDNA en marco con el gen de la región constante mu humana. Se amplificaron y secuenciaron las cadenas V kappa. Se identificaron cuatro productos de la cadena kappa mediante la RT-PCR. Se secuenciaron los productos y después del análisis de secuencias mediante traducción informatizada, solo tres de ellos tenían marcos de lectura abiertos. Estas tres cadenas kappa funcionales se clonaron a partir del pocillo del hibridoma U1-59 oligoclonal identificado basándose en la utilización del gen de V kappa como (1) VK1 A3-JK2, (2) VK1 A20-JK3 y (3) B3-JK1. Todas las V-kappa se

clonaron en el vector de expresión pCDNA en marco con un gen de la región constante de la cadena ligera kappa humana.

- 5 Transfecciones: Cada cadena pesada se transfectó con cada una de las cadenas kappa en transfecciones transitorias para un total de 6 parejas de cadena pesada/cadena ligera kappa. La transfección de la cadena gamma con la cadena kappa A20 proporcionó una mala expresión del anticuerpo, mientras que no se secretó o detectó anticuerpo cuando la cadena A20 kappa se transfectó simultáneamente con la cadena mu. Un total de tres IgG sups y dos IgM sups estuvieron disponibles para el ensayo de unión a HER-3.

Cadena	VH	D	J	Constante	ORF
Pesada	VH4-34	D1-20	JH2	Gamma	Sí
Pesada	VH2-5	D6-6	JH4b	Mu	Sí
Ligera	A3		JK2	Kappa	Sí
Ligera	A20		JK3	Kappa	Sí
Ligera	B3		JK1	Kappa	Sí
Ligera	A27		JK3	Kappa	NO

- 10 Se detectó la actividad de unión de las líneas de células HER-3+ en FACS con el mAb IgG1 consistente en la cadena kappa de VH4-34 y B3. Ninguna otra combinación VH/Vk proporcionó una señal de fluorescencia por encima del fondo en FACS que utilizan líneas de células HER-3+.

- 15 Competición de unión de los anticuerpos dirigidos contra HER-3: Se llevó a cabo la unión del anticuerpos competitiva multiplexada como se publicó en Jia et al. (2004) J Immunol Methods. 288, 91-98 para evaluar agrupaciones de anticuerpos dirigidos contra HER-3 que competían por la unión a HER-3. Los anticuerpos dirigidos contra HER-3 ensayados de la cohorte 1 se agruparon en 5 compartimentos basándose en la competición por la unión.

Compartimento n.º 1	Compartimento n.º 2	Compartimento n.º 3	Compartimento n.º 4	Compartimento n.º 5
U1-42	U1-48	U1-52	U1-38	U1-45
U1-44	U1-50		U1-39	U1-40
U1-62	U1-51			U1-41
U1-46				U1-43
U1-47	U1-49			U1-61
U1-58				U1-53
				U1-55

- 20 Caracterización de epítomos de los anticuerpos dirigidos contra HER-3: Se caracterizaron los epítomos de los anticuerpos dirigidos contra HER-3 humanos. En primer lugar, un análisis de inmunotransferencia de la proteína ECD purificada etiquetada con His de HER-3 desnaturalizada reducida, mostró la ausencia de unión por los anticuerpos dirigidos contra HER-3 ensayados (U1-59, U1-61, U1-41, U1-46, U1-53, U1-43, U1-44, U1-47, U1-52, U1-40, U1-49)) demostrando que todos tenían epítomos sensibles a la reducción de los enlaces disulfuro, sugiriendo que todos tenían epítomos discontinuos. A continuación, los anticuerpos se cartografiaron para definir los dominios en la molécula de HER-3 diseñando mediante ingeniería genética diversas moléculas quiméricas de HER-3 de ser humano-rata, basándose en la división del dominio extracelular de HER-3 en cuatro dominios:

- 30 1) L1 (D1): el dominio menor de unión a ligando,
 2) S1 (D2): el primer dominio rico en cisteína,
 3) L2 (D3): el dominio mayor de unión a ligando, y
 4) S2 (D4): el dominio sec rico en cisteína.

- 35 Se amplificó el dominio extracelular (ECD) del ADNc de HER-3 humana a partir de células RAT1-HER-3. Se amplificaron los ADNc de HER-3 de rata mediante la RT-PCR de un ARN de hígado de rata y se confirmaron mediante secuenciación. Los ADNc que expresaban el ECD de HER-3 de ser humano y rata se clonaron en vectores de expresión de mamíferos como proteínas de fusión V5-His. Los dominios de HER-3 ECD se intercambiaron en la estructura proporcionada por la HER-3 ECD de rata utilizando los sitios de restricción interna Mfe1, BstX1 y Dralll.
 40 Por este medio, se construyeron diversas proteínas de fusión HER-3 ECD HIS de rata/ser humano quiméricas

(aminoácidos 1-160, 161-358, 359-575, 1-358, 359-604) y se expresaron mediante transfección transitoria de células HEK 293T. Se confirmó la expresión de las construcciones utilizando un anticuerpo policlonal de rata contra HER-3 humana. Se ensayaron los anticuerpos monoclonales en ELISA para la unión a los ECD quiméricos secretados.

5 Dos de los anticuerpos humanos, incluyendo el anticuerpo U1-59, se hicieron reaccionar en cruzado con HER-3 de rata. Para asignar dominios de unión, estos mAb se ensayaron frente a una forma truncada de HER-3 consistente en la proteína etiquetada con L1-S1-V5his purificada a partir del sobrenadante de las células HEK 293T transfectadas con un ADN plásmido que codifica la expresión de los dominios extracelulares L1-S1 del mAb U1-59 dirigido contra HER-3 unido a la proteína L1-S1 en ELISA, implicando que su epítipo en el mAb 2.5.1 dirigido contra L1-S1 no se
10 une con la proteína L1-S1, implicando que su epítipo está en L2-S2. Se llevó a cabo el cartografiado adicional del anticuerpo U1-59 utilizando la espectroscopía de masas con tiempo de vuelo SELDI con digestiones proteolíticas en chip de los complejos mAb-HER-3 ECD.

15 Cartografiado de los epítipos U1-59 utilizando SELDI: Se llevó a cabo el cartografiado adicional del anticuerpo U1-59 utilizando la espectroscopía de masas con tiempo de vuelo SELDI con digestiones proteolíticas en chip de los complejos mAb-HER-3 ECD. La proteína A se unió covalentemente a la matriz del chip de proteína PS20 y se utilizó para capturar el mAb U1-59. A continuación el complejo del chip de proteína PS20 y el anticuerpo monoclonal se incubaron con el antígeno purificado HER-3-His. A continuación, el complejo antígeno-anticuerpos se digirió con una alta concentración de Asp-N. Se lavó el chip, dando como resultado la retención solo del péptido HER-3 unido al
20 anticuerpos sobre el chip. Se determinó el epítipo mediante SELDI y se identificó mediante la masa del fragmento. El fragmento 6814 D identificado corresponde a dos posibles péptidos esperados generados a partir de una digestión parcial de la HER-3-his ECD. Ambos péptidos solapantes cartografían el dominio S1. Acoplado los resultados de SELDI con la unión a una construcción de la delección de HER-3, el epítipo se cartografió en los restos 251 a 325.

25 La localización de los dominios de unión en la parte extracelular de HER-3 que son reconocidos por los mAb dirigidos contra HER-3 humanos se resumen en la TABLA 4. Los resultados de la cartografía del dominio del epítipo fueron consistentes con los resultados de los compartimentos de competición vinculados a la competición de los anticuerpos, con los anticuerpos que compiten en cruzado entre sí por la unión a HER-3 cartografiando también a los
30 mismos dominios en HER-3.

TABLA 4

<i>Sumario de los dominios de unión de mAb según los resultados del ensayo ELISA</i>					
MAB	XR Rata	Dominio de unión	mAb	XR Rata	Dominio de unión
U1-59	Sí	S1	U1-2	No	L2
U1-61	No	L2	U1-7	No	L2
U1-41	No	L2	U1-9	No	L2
U1-46	No	S1	U1-10	No	L2
U1-53	No	L2	U1-12	No	L2
U1-43	No	L2	U1-13	No	L2
U1-44	No	S1	U1-14	No	L2
U1-47	No	S1	U1-15	No	L2
U1-52	Sí	L2S2	U1-19	No	L2
U1-40	No	L2	U1-20	No	L2
U1-49	No	L1	U1-21	No	L2
U1-21	No	L2	U1-28	No	L2
U1-22	No	L2	(U1-31)	No	L2
U1-23	No	L2	U1-32	No	L2
U1-24	No	L2	(U1-35)	No	L2
U1-25	No	L2	U1-36	No	L2
U1-26	No	L2	(U1-37)	No	L2
U1-27	No	L2			

XR = reactividad cruzada

Ejemplo 9: Determinación de las clases convencionales de anticuerpos

Se ha descrito la estructura de los anticuerpos en términos de "clases convencionales" para las regiones hipervariables de cada cadena de inmunoglobulina (Chothia et al. (1987) J. Mol. Biol. 196:901-17). Se analizaron las estructuras atómicas de los fragmentos Fab y VL de una variedad de inmunoglobulinas para determinar la relación entre sus secuencias de aminoácidos y las estructuras tridimensionales de sus sitios de unión a antígenos. Chothia, *et al.* encontraron que había relativamente pocos restos que, a través de su empaquetamiento, enlace de hidrógeno, o la capacidad de asumir conformaciones phi, psi u omega poco usuales, eran principalmente responsables de las conformaciones de la cadena principal de las regiones hipervariables. Se encontró que estos restos se encontraban en sitios en las regiones hipervariables y en el marco de la lámina β conservada. Examinando las secuencias de inmunoglobulinas que tienen una estructura desconocida, Chothia, *et al.* muestran que muchas inmunoglobulinas tienen regiones hipervariables que son similares en tamaño a una de las estructuras conocidas y adicionalmente contenían restos idénticos en los sitios responsables para la conformación observada.

15 Su descubrimiento implica que estas regiones hipervariables tienen conformaciones cercanas a las de las estructuras conocidas. Para cinco de las regiones hipervariables, el repertorio de conformaciones pareció limitarse a un número relativamente pequeño de clases estructurales individuales. Estas conformaciones de cadena principal que se producen comúnmente de las regiones hipervariables se denominan "estructuras convencionales". Un trabajo adicional de Chothia et al. (Nature (1989) 342:877-83) y otros (Martin et al. (1996) J. Mol. Biol. 263:800-15) confirmó que existe un pequeño repertorio de conformaciones de cadena principal para al menos cinco de las seis regiones hipervariables de anticuerpos.

Se analizaron las CDR de cada anticuerpo descritas anteriormente para determinar su clase convencional. Como se sabe, se han asignado clases convencionales únicamente a la CDR1 y la CDR2 de la cadena pesada del anticuerpo, junto con CDR1, CDR2 y CDR3 de la cadena ligera de anticuerpo. Las siguientes tablas resumen los resultados del análisis. Los datos de las clases convencionales están en la forma de HCDR1-HCDR2-LCDR1-LCDR2-LCDR3, donde "HCDR" se refiere a la cadena pesada de la CDR y "LCDR" se refiere a la cadena ligera de la CDR. Por lo tanto, por ejemplo, una clase convencional de 1-3-2-1-5 se refiere a un anticuerpo que tiene un HCDR1 que se encuentra comprendido en la clase convencional 1, un HCDR2 que se encuentra comprendido en la clase convencional 3, un LCDR1 que se encuentra comprendido en la clase convencional 2, un LCDR2 que se encuentra comprendido en la clase convencional 1, y un LCDR3 que se encuentra comprendido en la clase convencional 5.

Se realizaron las asignaciones a una clase convencional concreta donde hubo un 70% o más de identidad de los aminoácidos en el anticuerpo con los aminoácidos definidos para cada clase convencional. Los aminoácidos definidos para cada anticuerpo se pueden encontrar, por ejemplo, en los artículos de Chothia, *et al.* referido anteriormente. La TABLA 5 y LA TABLA 6 notifican los datos de las clases convencionales de cada uno de los anticuerpos HER-3. Donde hubo menos de un 70% de identidad, la asignación de la clase convencional está marcada con un asterisco ("*") para indicar que se realizó la mejor estimación de la clase convencional adecuada, basándose en la longitud de cada CDR y en la totalidad de los datos. Donde no había una clase convencional correspondiente con la misma longitud de la CDR, la asignación de la clase convencional está marcada con una letra s y un número, tal como "s18", lo que significa que la CDR es de tamaño 18. Donde no había datos de la secuencia disponibles para una de las cadenas pesada o ligera, la clase convencional está marcada con "Z".

TABLA 5

Anticuerpo (clasificado)	H1-H2-L1-L2-L3	Longitud H3	Anticuerpo (clasificado)	H1-H2-L1-L2-L3	Longitud H3
U1-38	3-1-4-1-1	9	U1-7	3-1-2-1-1	12
U1-39	1-1-4-1*-1	6	U1-9	3-1-2-1-1	12
U1-40	3-1-4-1-1	15	U1-10	3-1-2-1-1	12
U1-41	3-1-2-1-1	15	U1-12	3-1-2-1-1	12
U1-42	1-2-2-1-1	9	U1-13	3-1-4-1-1	7
U1-43	3-1-2-1-1	17	U1-14	3-1-2-1-1	12
U1-44	1-2-2-1-1	9	U1-15	3-1-8-1-1	14
U1-45	1-2*-2-1-1	16	U1-19	3-1-Z-Z-Z	12
U1-46	3-s18-Z-Z-Z	17	U1-20	3-1-2-1-1	19
U1-47	3-s18-2-1-1	16	U1-21	3-1-2-1-1	12
U1-48	1-1-Z-Z-Z	16	U1-22	3-1-2-1-1	12
U1-49	1-3-4-1-1	17	U1-23	3-1-2-1-1	12
U1-50	3-1-2-1-1	17	U1-24	3-1-2-1-1	12
U1-51	1-1-3-1-1	19	U1-25	3-1-2-1-1	12
U1-52	3-1-8-1-1	15	U1-26	3-1-2-1-1	12
U1-53	1-3-2-1-1	10	U1-27	3-1-2-1-1	12
U1-55	3-1-4-1-1	15	U1-28	3-1-2-1-1	12
U1-57	3-1-4-1-1	15	U1-31	1-2-2-1-1	13
U1-58	1-3-2-1-1	12	U1-32	3-1-2-1-1	12
U1-59	1-1-3-1-1	9	U1-35	1-3-2-1-1	14
U1-61.1	3-1*-2-1-1	16	U1-36	3-1-2-1-1	12
U1-62	1-2-8-1-1	12	U1-37	1-2-Z-Z-Z	13
U1-2	3-1-2-1-1	12			

5 La TABLA 6 es un análisis del número de anticuerpos por clase. El número de anticuerpos que tienen la clase convencional concreta designado en la columna de la izquierda se muestra en la columna de la derecha. Los cuatro mAb que carecen de datos de secuencia de una cadena y, por tanto, que tienen "Z" en la asignación convencional no se incluyen en este recuento.

10 La estructura observada más comúnmente es 3-1-2-1-1: Veintiuno de cuarenta y uno mAb que tienen secuencias de la cadena pesada y ligera tenían esta combinación.

TABLA 6

H1-H2-L1-L2-L3	Recuento
1-1-3-1-1	2

H1-H2-L1-L2-L3	Recuento
1-1-4-1*-1	1
1-2-2-1-1	4
1-2-8-1-1	1
1-3-2-1-1	3
1-3-4-1-1	1
3-1-2-1-1	21
3-1-4-1-1	5
3-1-8-1-1	2
3-s18-2-1-1	1

Ejemplo 10: Determinación de la afinidad del anticuerpo

Se llevaron a cabo las mediciones de afinidad de los anticuerpos dirigidos contra HER-3 mediante análisis indirecto de FACS Scatchard. Por lo tanto, se recogieron 10^5 células de interés o células SK-Br 3 con EDTA 10 mM en PBS, se lavaron una vez con tampón FACS (PBS, FCS al 3 %, azida al 0,4 %) y se sembraron sobre una placa de fondo redondeado de 96 pocillos. Las células se centrifugaron durante 3 min a 1000 rpm para eliminar el sobrenadante y a continuación se volvieron a suspender con un anticuerpo dirigido contra α -HER-3 (3 μ g/ml) o con diluciones de anticuerpo (100 μ l/pocillo) comenzando con 20 μ g/ml de anticuerpo monoclonal humano en tampón FACS, se diluyeron en etapas de dilución 1:2. Se incubaron suspensiones de células en hielo durante 1 h, se lavaron dos veces con tampón FACS y se volvieron a suspender con anticuerpo secundario (100 μ l/pocillo) de burro dirigido contra PE humana (Jackson) diluido 1:50 en tampón FACS. Las suspensiones celulares se incubaron en hielo y en la oscuridad durante 30 min, se lavaron dos veces con tampón FACS y se analizaron (FACS, Beckman Coulter). De acuerdo con el análisis FACS Scatchard, se calculó el promedio de la fluorescencia para cada medición. La tinción de fondo (= sin el 1^{er} anticuerpo) se sustrajo de cada promedio de fluorescencia. Se generó la gráfica Scatchard con el valor x = promedio de la fluorescencia y valor y = promedio de la fluorescencia/concentración de mAb (nM). Se tomó la KD como el valor absoluto de $1/m$ de ecuación lineal. En la TABLA 7 se proporcionan mediciones de la afinidad para determinados anticuerpos seleccionados de esta manera.

TABLA 7

Clon	KD (nm)
U1-38	n.d.
U1-39	102
U1-40	6,7
U1-41	0,18
U1-42	n.d.
U1-43	0,57
U1-44	4
U1-52	16,8
U1-61	0,13
U1-62	20,4
U1-46	13,8
U1-47	9,38
U1-49	1
U1-50	39,3
U1-51	131,6
U1-53	0,082
U1-55,1	3,7
U1-58	6,4
U1-59	3,69
U1-24	0,06
U1-7	0,02

20

Ejemplo 11: Los anticuerpos dirigidos contra HER-3 inducen la endocitosis del receptor HER-3

Se ha identificado HER-3 como un factor que puede influenciar el inicio y la progresión de enfermedades hiperproliferativas sirviendo como un garante importante de la señalización celular mediada por la familia HER. Por lo tanto, si HER-3 se elimina eficaz de la superficie/membrana celular por la internalización del receptor, la señalización y por tanto, la transformación y/o el mantenimiento de células en una neoplasia puede disminuirse o suprimirse en última instancia.

25

A fin de investigar si los anticuerpos dirigidos contra HER-3 son capaces de inducir una endocitosis acelerada de HER-3, se compararon la cantidad relativa de moléculas de HER-3 sobre la superficie celular tras 0,5 y 4 h de incubación de las células con anticuerpos dirigidos contra HER-3. se sembraron 3×10^5 células en medio de crecimiento normal en una placa de 24 pocillos y se dejó crecer durante la noche. Se preincubaron las células con 10 $\mu\text{g/ml}$ de mAb dirigidos contra HER-3 en medio de crecimiento normal durante los tiempos indicados a 37°C . Las células se desprendieron con EDTA 10 mM, y se incubaron con 10 $\mu\text{g/ml}$ de mAb dirigidos contra HER-3 en tampón de lavado (PBS, FCS al 3 %, azida al 0,04 %) durante 45 min a 4°C . Se lavaron dos veces las células con tampón de lavado, se incubaron con anticuerpo secundario de burro dirigido contra PE humana (Jackson) se diluyeron 1:100 durante 45 min a 4°C , se lavaron dos veces con tampón de lavado y se analizaron mediante FACS (Beckman-Coulter, EXPO). Se calculó el porcentaje de internalización basándose en la reducción de la intensidad de la fluorescencia promedio de las muestras tratadas con anticuerpos dirigidos contra HER-3 con respecto a las muestras tratadas con el control. Estos experimentos demostraron que el tratamiento de las células con anticuerpos dirigidos contra HER3 conduce a la internalización del receptor. Véase, Figura 5 de la publicación de Estados Unidos n.º 20080124345.

Ejemplo 12: Inhibición de la unión al ligando de células SKBR3 de cáncer humano por anticuerpos dirigidos contra HER-3 humanos

Se llevaron a cabo experimentos de competición de radioligandos a fin de cuantificar la capacidad de los anticuerpos dirigidos contra HER-3 de inhibir la unión del ligando con HER-3 en un ensayo basado en células. Por lo tanto, se llevó a cabo el ensayo de unión al receptor HER-3 con 4×10^5 SK-BR-3 células que se incubaron con concentraciones variables de anticuerpos durante 30 min en hielo. Se añadieron 1,25 nM de $[^{125}\text{I}]\text{-}\alpha\text{-HRG}/[^{125}\text{I}]\text{-}\beta\text{-HRG}$ a cada pocillo y se continuó la incubación durante 2 h en hielo. Se lavaron las placas cinco veces, se secaron al aire y se contaron en un contador de centelleo. Los anticuerpos fueron capaces de reducir específicamente la unión de $[^{125}\text{I}]\text{-}\alpha\text{-HRG}/[^{125}\text{I}]\text{-}\beta\text{-HRG}$ a las células que expresaban HER-3 endógeno. Véase, las Figuras 6a-6e de la publicación de Estados Unidos n.º 20080124345.

Ejemplo 13: Inhibición de la fosforilación de HER-3 inducida por ligando mediante anticuerpos dirigidos contra HER-3 humanos

Se llevaron a cabo experimentos ELISA a fin de investigar si los anticuerpos son capaces de bloquear la activación de HER-3 mediada por el ligando de $\beta\text{-HRG}$. Se detectó la activación de HER-3 mediada por el ligando mediante la fosforilación aumentada del receptor de la tirosina.

Día 1: 1 placa de 96 pocillos se revistió con 20 $\mu\text{g/ml}$ de Colágeno I en ácido acético 0,1 M durante 4 h a 37°C . Se sembraron $2,5 \times 10^5$ células en medio de crecimiento normal

Día 2: Las células fueron privadas de alimento en 100 μl de medio exento de suero durante 24 h.

Día 3: Se preincubaron las células con 10 $\mu\text{g/ml}$ de mAb dirigidos contra HER-3 durante 1 h a 37°C y a continuación se trataron con 30 ng/ml de dominio $\beta\text{-HRG-EGF}$ (R&D Systems) durante 10 min. Se extrajo el medio y se fijaron las células con una solución al 4% de formaldehído en PBS durante 1 h a temperatura ambiente. Se retiró la solución de formaldehído y se lavaron las células con tampón de lavado (PBS/Tween 20 al 0,1 %). Se inactivaron las células con H_2O_2 al 1%, NaN_3 al 0,1% en tampón de lavado y se incubaron durante 20 min a temperatura ambiente, a continuación se bloquearon con NET-Gelantina durante 5 h a 4°C . Se añadió anticuerpo primario phospho-HER-3 (Tyr1289) (anticuerpo policlonal de conejo; Cell signaling n.º 4791; 1:300) durante la noche a 4°C .

Día 4: Se lavó la placa 3x con tampón de lavado, a continuación se incubó con anticuerpo dirigido contra POD de conejo diluido 1:3000 en PBS. Se añadió BSA al 0,5% a cada pocillo y se incubó durante 1,5 h a temperatura ambiente. Se lavó la placa 3x con tampón de lavado y una vez con PBS. Se añadió tetrametilbencidina (TMB, Calbiochem) y se vigiló a 650 nm. La reacción se detuvo mediante la adición de 100 μl de HCl 250 nM y se leyó la absorbancia a 450 nm con una longitud de onda de referencia de 650 nm utilizando un lector de placas Vmax (Thermo Lab Systems).

Estos experimentos demostraron que los anticuerpos dirigidos contra HER-3 eran capaces de reducir la activación de HER-3 mediada por el ligando indicada por una fosforilación disminuida del receptor de la tirosina. Véase, Figura 7a de la publicación de Estados Unidos n.º 20080124345.

Para ensayar la potencia del mAb U1-53 para inhibir la activación de HER-3 inducida por el ligando, Las células MCF-7 fueron privadas de alimento durante 24 h, se incubaron con mAb U1-53 durante 1 h a 37°C y se estimularon con 10 nM de HUG- β durante 10 min. Se transfirieron los lisados a placas ELISA con 1B4 (mAb de ratón dirigido contra HER-3) y se analizó la fosforilación de HER-3 con el anticuerpo 4G10. La fosforilación de HER-3 fue inhibida casi completamente de una manera dependiente de la dosis con una CI_{50} de 0,14 nM. Véase, La Figura 7b de la publicación de Estados Unidos n.º 20080124345.

Ejemplo 14: Inhibición de la fosforilación de la quinasa p42/p44 MAP inducida por el ligando mediante los anticuerpos dirigidos contra HER-3 humanos

Se llevaron a cabo a continuación experimentos ELISA a fin de investigar si los anticuerpos son capaces de bloquear la activación del ligando mediada por β -HRG de la quinasa p42/p44 MAP. Se detectó la activación de HER-3 mediada por el ligando mediante la fosforilación aumentada de la proteína (Thr202/Tyr204).

Día 1: se revistió 1 placa de 96 pocillos con 20 μ g/ml de Colágeno I en ácido acético 0,1 M durante 4 h a 37°C. Se sembraron 3×10^5 en medio de crecimiento normal

Día 2: Las células fueron privadas de alimento en 100 μ l de medio exento de suero durante 24 h.

Día 3: Se preincubaron las células con 5 μ g/ml de mAB dirigidos contra HER-3 durante 1 h a 37°C y a continuación se trataron con 20 ng/ml de dominio β -HRG-EGF (R&D Systems) durante 10 min. Se extrajo el medio y se fijaron las células con una solución al 4% de formaldehído en PBS durante 1 h a temperatura ambiente. Se retiró la solución de formaldehído y se lavaron las células con tampón de lavado (PBS/Tween 20 al 0,1%). Se inactivaron las células con H₂O₂ al 1%, NaN₃ al 0,1% en tampón de lavado y se incubaron durante 20 min a temperatura ambiente, a continuación con PBS/BSA al 0,5% durante 5 h a 4 °C. Se añadió anticuerpo primario fosfo-quinasa p42/p44 MAP (Thr202/Tyr204) (anticuerpo policlonal de conejo; Cell signaling n.º 9101; 1:3000) durante la noche a 4°C. Día 5: Se lavó la placa 3x con tampón de lavado, a continuación se incubó con anticuerpo dirigido contra HRP de conejo diluido 1:5000 en PBS - se añadió BSA al 0,5% a cada pocillo y se incubó durante 1,5 h a temperatura ambiente. Se lavó la placa 3x con tampón de lavado y una vez con PBS. Se añadió tetrametilbencidina (TMB, Calbiochem) y se vigiló a 650 nm. La reacción se detuvo mediante la adición de 100 μ l de HCl 250 nM y se leyó la absorbancia a 450 nm con una longitud de onda de referencia de 650 nm utilizando un lector de placas Vmax (Thermo Lab Systems). Estos experimentos desvelaron que los anticuerpos dirigidos eran capaces de reducir la activación de la quinasa p42/p44 MAP mediada por el ligando tal como indica la fosforilación disminuida. Véase, Figura 8 de la publicación de Estados Unidos n.º 20080124345.

Ejemplo 15: Inhibición de la fosforilación de Phospho-AKT inducida β -HRG mediante anticuerpos dirigidos contra HER-3 humanos

En el siguiente experimento ELISA los inventores investigaron si los anticuerpos dirigidos contra HER-3 son capaces de bloquear la activación de la quinasa AKT mediada por β -HRG. Se detectó la activación de AKT mediada por el ligando mediante la fosforilación aumentada de la proteína (Ser473).

Día 1: se revistió 1 placa de 96 pocillos con 20 μ g/ml de Colágeno I en ácido acético 0,1 M durante 4 h a 37°C. Se sembraron 3×10^5 en medio de crecimiento normal

Día 2: Las células fueron privadas de alimento en 100 μ l de medio exento de suero durante 24 h.

Día 3: Se preincubaron las células con 5 μ g/ml de mAB dirigidos contra HER-3 durante 1 h a 37°C y a continuación se trataron con 20 ng/ml de dominio β -HRG-EGF (R&D Systems) durante 10 min. Se extrajo el medio y se fijaron las células con una solución al 4% de formaldehído en PBS durante 1 h a temperatura ambiente. Se retiró la solución de formaldehído y se lavaron las células con tampón de lavado (PBS/Tween 20 al 0,1 %). Se inactivaron las células con H₂O₂ al 1%, NaN₃ al 0,1% en tampón de lavado y se incubaron durante 20 min a temperatura ambiente, a continuación se bloquearon con PBS/BSA al 0,5 % durante 5 h a 4° C. Se añadió anticuerpo primario phospho-Akt (Ser473) (anticuerpo policlonal de conejo; Cell signaling n.º 9217; 1:1000) durante la noche a 4°C.

Día 4: Se lavó la placa 3x con tampón de lavado, a continuación se incubó con anticuerpo dirigido contra HRP de conejo diluido 1:5000 en PBS - se añadió BSA al 0,5% a cada pocillo y se incubó durante 1,5 h a temperatura ambiente. Se lavó la placa 3x con tampón de lavado y una vez con PBS. Se añadió tetrametilbencidina (TMB, Calbiochem) y se vigiló a 650 nm. La reacción se detuvo mediante la adición de 100 μ l de HCl 250 nM y se leyó la absorbancia a 450 nm con una longitud de onda de referencia de 650 nm utilizando un lector de placas Vmax (Thermo Lab Systems). Los anticuerpos dirigidos contra HER-3 fueron capaces de reducir AKT mediada por β -HRG como se indicó por la fosforilación disminuida. Véase, Figura 9 de la publicación de Estados Unidos n.º 20080124345.

Ejemplo 16: Inhibición de la proliferación celular de MCF7 mediada por α -HRG/ β -HRG mediante anticuerpos dirigidos contra HER-3 humanos

Se llevaron a cabo experimentos *in vitro* a fin de determinar la capacidad de los anticuerpos para inhibir la proliferación celular estimulada por HRG. Se sembraron 2000 MCF7 en medio que contenía FCS en placas de 96 pocillos durante la noche. Se preincubaron las células por cuadruplicado con anticuerpos diluido en medio con FCS al 0,5% durante 1 h a 37°C. Se estimularon las células con 30 ng/ml de α -HRG o 20 ng/ml de β -HRG (R&D Systems) añadiendo ligando directamente a una solución de anticuerpo y a continuación se dejaron crecer durante 72 h. Se añadió ALAMAREBLUE™ (BIOSOURCE) y se incubó a 37°C en la oscuridad. Se midió la absorbancia a 590 nm cada 30 min. Los datos se tomaron 90 min después de la adición de alamar blue. Estos estudios mostraron que los anticuerpos representativos podrían inhibir el crecimiento celular inducido por HRG en células de cáncer humano. Véase, Figura 10 de la publicación de Estados Unidos n.º 20080124345.

Ejemplo 17: Inhibición de la migración de células MCF7 inducida por β -HRG mediante anticuerpos dirigidos contra HER-3 humanos

Se llevaron a cabo los experimentos de transmigración a fin de investigar si los anticuerpos bloquean la migración de células. Se preincubaron células MCF7 privadas de suero añadiendo la cantidad indicada de anticuerpos a la suspensión celular e incubando ambas durante 45 min a 37°C. A continuación se colocaron 500 μ l de suspensión de células (50.000 células) en la cámara superior de transpocillos revestidos con colágeno I (BD Falcon, poros de 8 μ m). Se utilizaron 750 μ l de medio (MEM, aminoácidos, Piruvato de Na, Pen.-Estrept., BSA al 0,1 %, sin suero de feto de ternera) solo o conteniendo los ligandos del dominio β -HRG-EGF (R&D Systems) en la cámara inferior. Se dejaron migrar las células durante 8 h a 37°C y a continuación se tiñeron con DAPI. Los núcleos teñidos se contaron manualmente; el porcentaje de inhibición se expresó como una inhibición con respecto a un anticuerpo del control. Estos experimentos demostraron que los anticuerpos dirigidos contra HER-3 representativos podría reducir la migración de células inducida por HRG. Véase, Figura 11 de la publicación de Estados Unidos n.º 20080124345.

15 Ejemplo 18: Ensayo de formación de colonias (Ensayo de agar blando)

Se llevaron a cabo los ensayos de agar blando a fin de investigar la capacidad de los anticuerpos dirigidos contra HER-3 de inhibir el crecimiento celular independiente del anclaje. El ensayo de formación de colonias en agar blando es un ensayo normalizado *in vitro* para probar las células transformadas, ya que solo dichas células transformadas pueden crecer en agar blando.

se preincubaron 750 a 2000 células (dependiendo de la línea de células) con los anticuerpos indicados a 10 μ g/ml en medio IMDM (Gibco) durante 30 min y se volvieron a suspender en agar noble de Difco al 0,4%. La suspensión de células se sembró en placas en capa inferior de agarosa al 0,75% que contenía FCS al 20% por cuadruplicado en una placa de 96 pocillos. Se dejaron formar las colonias durante 14 días, y a continuación se tiñeron con 50 μ l de MTT (0,5 mg/ml en PBS) durante la noche, y se contaron con un sistema de cámara Scanalyzer HTS (Lemnatec, Wuerselen). Los anticuerpos dirigidos contra HER-3 fueron capaces en reducir el crecimiento celular independiente del anclaje de células MDA-MB361 and NCI-ADR de cáncer de mama, células MKN-28 de cáncer gástrico, células T HT144 de melanoma, células Skov3 de carcinoma de ovario, células PPC-1 de cáncer de próstata, células BX-PC3 de cáncer de páncreas, células A431 de carcinoma epidermoide, y células de carcinoma de pulmón. Véase, las Figuras 12a-12i de la publicación de Estados Unidos n.º 20080124345.

Ejemplo 19: Anticuerpos dirigidos contra HER-3 humanos inhiben el crecimiento del carcinoma de mama humano en ratones atímicos

La eficacia antitumoral de los anticuerpos terapéuticos se evalúa a menudo en estudios de xenoinjertos de tumores humanos. En estos estudios, el crecimiento de los tumores humanos como xenoinjertos en ratones inmunocomprometidos y la eficacia terapéutica se midieron por el grado de inhibición del crecimiento del tumor. A fin de determinar, si los anticuerpos dirigidos contra HER-3 interfieren con el crecimiento del tumor de células de cáncer de mama humanas en ratones atímicos, se implantaron 5×10^6 células T47D en ratones hembras atímicos NMRI/atímicos. Los tumores fueron subcutáneos, crecieron en la parte posterior del animal. Los tratamientos comenzaron cuando los tumores alcanzaron un volumen medio de 20 mm³; ocho días después del implante. Antes del primer tratamiento, se aleatorizaron los ratones y se llevaron a cabo las pruebas estadísticas para asegurar la uniformidad en los volúmenes tumorales de partida (media, mediana y desviación estándar) a través de los grupos de tratamiento. El tratamiento comenzó con una dosis de carga de 50 mg/kg seguida por inyecciones de 25 mg/kg una vez a la semana mediante inyección intraperitoneal. Un brazo del control recibió doxorubicina (calidad farmacéutica). Se suplementaron todos los animales con 0,5 mg/kg/semana de estrógeno inyectado i.p. En la TABLA 8 siguiente se proporcionan los detalles de los grupos de tratamiento. Estos estudios demostraron que la administración de un anticuerpo dirigido contra HER-3 dio como resultado la reducción del crecimiento del tumor. Véase, Figura 13 de la publicación de Estados Unidos n.º 20080124345.

TABLA 8

Grado	N	1 ^{er} Compuesto	Carga (mg/kg)	Dosis semanal (mg/kg)	Ruta	Calendario
1.	10	PBS		--	i.p.	una vez a la semana
2.	10	Doxorrubicina		8 mg/kg	i.v.	una vez a la semana*
3.	10	U1-53	50mg/kg 20 ml/kg	25mg/kg 10ml/kg	i.p.	una vez a la semana

* tratamiento de doxorubicina como se describe por Boven *et al.*, Cancer Research, 1992.

Ejemplo 20: Los anticuerpos dirigidos contra HER-3 humanos inhiben el crecimiento del tumor de páncreas humano en ratones SCID

5 Para ensayar el potencial terapéutico de los anticuerpos dirigidos contra HER-3 en otros tipos de tumores sólidos se ensayaron los anticuerpos dirigidos contra HER-3, U1-53 y U1-59, en ratones con tumores establecidos derivados de la línea de células BxPC3 de tumor de páncreas humano. Como conjuntos de controles de ratones tratados con el vehículo del control, se incluyeron PBS o el anticuerpo terapéutico establecido, Erbitux. Se inocularon 5×10^6 células BxPC3 por vía subcutánea sin Matrigel en ratones CB17 SCID. Los ratones que soportan tumores establecidos con un volumen medio de 140 mm^2 recibieron 50 mg/kg de U1-53, U1-59, Erbitux o el volumen equivalente de PBS
10 mediante inyección intraperitoneal. Posteriormente los ratones recibieron una vez a la semana 25 mg/kg de inyecciones durante la duración del estudio.

U1-53 y U1-59 redujeron el crecimiento de los tumores de páncreas humano de una manera citostática. Véase, Figura 14 de la publicación de Estados Unidos n.º 20080124345. De forma notable, en este experimento, U1-53 y U1-59 fueron más eficaces que el anticuerpo Erbitux dirigido contra EGF-R en el retraso del crecimiento tumoral. Estos estudios demostraron la eficacia terapéutica de los anticuerpos dirigidos contra HER-3 en comparación con el agente terapéutico de referencia.
15

Ejemplo 21: La combinación de anticuerpos dirigidos contra HER-3 humanos con anticuerpos dirigidos contra EGFR aumenta la actividad antitumoral

La monoterapia de enfermedades hiperproliferativas con anticuerpos dirigidos está a menudo impedida por problemas tales como, por una parte, el desarrollo de resistencia a fármacos, y por otra parte, un cambio en la antigenicidad. Por ejemplo, la pérdida de antigenicidad tras el tratamiento prolongado puede volver las células tumorales insensibles a los anticuerpos terapéuticos, debido a que aquellas células tumorales que no expresan o han perdido el antígeno dirigido tienen una ventaja de crecimiento selectiva. Estos problemas pueden solventarse utilizando los anticuerpos en combinación con un anticuerpo terapéutico que dirige un receptor diferente sobre las células tumorales, u otro agente antineoplásico. Intervenir en múltiples rutas de señalización o incluso en rutas relacionadas, pero en múltiples etapas de intervención puede proporcionar también beneficio terapéutico. Es probable que estas modalidades de tratamientos combinados sean más eficaces, ya que combinan dos agentes anticancerosos, funcionando cada uno mediante un mecanismo de acción diferente.
25
30

A fin de demostrar la factibilidad de los anticuerpos U1-53 y U1-59 dirigidos contra HER-3 como agentes de combinación adecuados, los inventores compararon administraciones monoterapéuticas de U1-53 o U1-59 con aquellas en que tanto U1-53 o U1-59 se combinaron con el anticuerpo específico dirigido contra EGR, Erbitux. Se inocularon 5×10^6 células BxPC3 por vía subcutánea con Matrigel en ratones CB17 SCID. Después que los volúmenes tumorales habían alcanzado 200 mm^3 , se aleatorizaron los ratones en grupos de tratamiento individuales. Se llevaron a cabo administraciones intraperitoneales de U1-53, U1-59 y Erbitux como únicos agentes o combinaciones tanto de anticuerpos dirigidos contra HER-3 con Erbitux o como un coctel de dos anticuerpos dirigidos contra HER-3. Se dosificaron todos los anticuerpos a una carga única de 50 mg/kg/semana, seguido por inyecciones semanales de 25 mg/kg durante seis semanas. Los brazos del control recibieron administraciones bisemanales de Gemcitabina (120 mg/kg), se combinaron semanalmente inyecciones de IgG humana o vehículo (PBS). En la TABLA 9 siguiente se detallan los regímenes.
35
40

45

TABLA 9

Grado	N	Compuesto	Dosis de carga (mg/kg)	Dosis semanal (mg/kg)	Ruta	Calendario
1	12	PBS	20 ml/kg	10ml/kg	q7d	i.p.
2	12	IgG humana combinada	50mg/kg	25mg/kg	q7d	i.p.
3	12	U1-53	50mg/kg	25mg/kg	q7d	i.p.
4	12	U1-59	50mg/kg	25mg/kg	q7d	i.p.
5	12	Erbitux	50mg/kg	25mg/kg	q7d	i.p.
6	12	U1-53 + Erbitux	25 mg/kg cada uno	12,5mg/kg cada uno	q7d	i.p.
7	12	U1-59 + Erbitux	25 mg/kg cada uno	12,5mg/kg cada uno	q7d	i.p.
8	12	U1-53 + U1-59	25 mg/kg cada uno	12,5mg/kg cada uno	q7d	i.p.
9	12	Gemcitabina	ninguno	120 mg/kg	2x semanalmente	i.p.

Cuando se administraron los anticuerpos U1-53 y U1-59 en monoterapia, se retrasó el crecimiento de los tumores de páncreas humanos en el mismo grado que Gemcitabina, que se usa a menudo como quimioterapia normalizada

contra el cáncer de páncreas. La administración de Erbitux con U1-53 o U1-59 dio como resultado una reducción significativamente mayor de crecimiento del tumor que la observada con la administración en monoterapia tanto de U1-53, como de U1-59 o Erbitux. Por lo tanto, se puede conseguir una respuesta terapéutica beneficiosa combinando los anticuerpos dirigidos contra HER-3 con anticuerpos adecuados que dirigen los antígenos tumorales separados. Véase, Figura 15 de la publicación de Estados Unidos n.º 20080124345.

En resumen, los anticuerpos dirigidos contra HER-3 tenían una potente eficacia terapéutica frente a los tumores humanos *in vivo*. pueden combinarse eficazmente con otros agentes terapéuticos antineoplásicos para el aumento de actividad antitumoral.

Ejemplo 22: Los anticuerpos dirigidos contra HER-3 humanos inhiben el crecimiento tumoral del melanoma humano en ratones nu/nu

Los miembros de la familia erbB de receptores, incluyendo HER-3, se expresan de forma anómala en una gran variedad de cánceres epiteliales y se sabe que juegan importantes papeles en el crecimiento y la supervivencia de muchos de estos tumores sólidos. Estos tumores incluyen melanomas, cánceres escamocelulares de cabeza y cuello, cáncer de pulmón no microcítico y cáncer de próstata, glioma, cáncer gástrico, de mama, colorrectal, de páncreas, cánceres de ovario. A fin de verificar, que los anticuerpos dirigidos contra HER-3 no están restringidos en su actividad anticancerosa a tipos de tumores individuales, por ejemplo, cánceres de páncreas (véase, Ejemplos 21), pero que se pueden usar como agentes terapéuticos contra muchos tumores dependientes de HER-3, los inventores ensayaron U1-53 y U1-59 en estudios de xenoinjertos adicionales. Se inyectaron células HT144 de melanoma humano (5×10^5) por vía subcutánea en ratones CB17 SCID, seguido por una inyección intraperitoneal posterior inmediata de 50 mg/kg de U1-53 y U1-59, el volumen equivalente de PBS o Dacarbacina (DITC) a 200 mg/kg. Posteriormente, los ratones recibieron 25 mg/kg de U1-53 o U1-59 una vez semanalmente, mientras que se proporcionó DITC una vez cada dos semanas a 200 mg/kg.

Se calcularon las medianas de los volúmenes tumorales de cada grupos de tratamiento. La administración de los anticuerpos dio como resultado la reducción del crecimiento de los melanomas humanos cuando se compararon con tumores que se habían tratado con el vehículo del control. Véase, Figura 16 de la publicación de Estados Unidos n.º 20080124345. Estos resultados demuestran que los anticuerpos no están restringidos en su potencial terapéutico y se dirigen a una amplia variedad de cánceres que expresan HER-3.

Ejemplo 23: Los anticuerpos dirigidos contra HER-3 humanos inhiben el crecimiento de los xenoinjertos de carcinoma de colon en ratones

Se suspendieron células HT-29 de carcinoma de colon humano en medio con una relación 2:1 de Matrigel a una concentración final de 10×10^6 células/ml. se inyectaron 0,2 ml de la suspensión de células por vía s.c. en el flanco derecho de ratones CD1 nu/nu de 4-5 semanas de edad. Se utilizaron un total de 95 ratones.

Los ratones se asignaron aleatoriamente a los grupos del control y de tratamiento. El tratamiento comenzó el mismo día. La duración del tratamiento fue de 29 días. Tras la finalización del estudio, se recogieron tres tumores por grupo 3 horas después de la administración del tratamiento. Los tumores se congelaron rápidamente y se mantuvieron a -80°C .

El siguiente protocolo de tratamiento se llevó a cabo:

- Grupo control: IgG humana no específica 25 mg/kg, dos veces a la semana, intraperitoneal
- Grupo de tratamiento: anticuerpos U1-53, 25 mg/kg, dos veces a la semana, intraperitoneal
- Grupo de tratamiento: anticuerpos U1-7, 25 mg/kg, dos veces a la semana, intraperitoneal
- Grupo de tratamiento: anticuerpos U1-59, 25 mg/kg, dos veces a la semana, intraperitoneal
- Grupo de tratamiento 5-FU: 5-fluorouracilo, 50 mg/kg, 9d x5, intraperitoneal

Se calcularon las medianas de los volúmenes tumorales de cada grupo de tratamiento. La administración de los anticuerpos dio como resultado la reducción del crecimiento de los tumores HT-29 de carcinoma de colon cuando se compararon con tumores que se habían tratado con IalG1 no específica humana. Véase, Figura 17 de la publicación de Estados Unidos n.º 20080124345.

Ejemplo 24: Los anticuerpos dirigidos contra HER-3 humanos inhiben el crecimiento del cáncer de pulmón en ratones

Se suspendieron células Calu-3 de cáncer de pulmón no microcítico en medio con una relación 1:1 de Matrigel a una concentración final de 5×10^6 células/ml. se inyectaron 0,05 ml de la suspensión de células por vía s.c. en el flanco derecho de ratones CB17 hembras de 9 semanas de edad. Se utilizaron un total de 60 ratones.

Los ratones se asignaron aleatoriamente a los grupos del control y de tratamiento. El tratamiento comenzó el mismo día. La duración del tratamiento fue de 32 días.

El siguiente protocolo de tratamiento se llevó a cabo:

Grupo de vehículo PBS

- 5
- grupo hG del control: IgG humana no específica: 25 mg/kg, dos veces a la semana, intraperitoneal
 - Grupo de tratamiento anticuerpo U1-53, 25 mg/kg, dos veces a la semana, intraperitoneal
 - Grupo de tratamiento anticuerpo U1-7, 25 mg/kg, dos veces a la semana, intraperitoneal
 - Grupo de tratamiento anticuerpo U1-59, 25 mg/kg, dos veces a la semana, intraperitoneal
- 10 Se calcularon las medianas de los volúmenes tumorales de cada grupos de control y de tratamiento. La administración de los anticuerpos dio como resultado la reducción del crecimiento de los xenoinjertos de cáncer de pulmón no microcítico cuando se compararon con tumores que se habían tratado con el PBS vehículo del control o IgG humana no específica. Véase, Figura 18 de la publicación de Estados Unidos n.º 20080124345.

15 **Ejemplo 25: Los anticuerpos dirigidos contra HER-3 humanos inhiben el crecimiento del tumor de páncreas humano en ratones Balb/C**

Se suspendieron células BxPC3 de tumor de páncreas humano en medio con una relación 2:1 de Matrigel a una concentración final de 5×10^6 células por ml. se inyectaron 0,2 ml de la suspensión de células por vía s.c. en el flanco derecho de ratones hembras BalbC nu/nu de 5-7 semanas de edad. Se utilizaron un total de 100 ratones.

Los ratones se distribuyeron aleatoriamente en los grupos del control y de tratamiento. El tratamiento comenzó el mismo día. La duración del tratamiento fue de 27 días.

25 El siguiente protocolo de tratamiento se llevó a cabo:

- grupo hlgG del control: IgG2 humana no específica, 25 mg/kg, dos veces a la semana, intraperitoneal
- Grupo de tratamiento anticuerpo U1-53, 25 mg/kg, dos veces a la semana, intraperitoneal
- Grupo de tratamiento anticuerpo U1-7, 25 mg/kg, dos veces a la semana, intraperitoneal
- 30 - Grupo de tratamiento anticuerpo U1-59, 25 mg/kg, semanalmente, intraperitoneal
- Grupo de tratamiento con Gemzar, gemcitabina, 80 mg/kg, semanalmente, intraperitoneal

Se calcularon las medianas de los volúmenes tumorales de cada grupos de control y de tratamiento. La administración de los anticuerpos dio como resultado la reducción del crecimiento de los tumores de páncreas humanos cuando se compararon con tumores que se habían tratado con IgG humana no específica o con Gemzar. Véase, Figura 19 de la publicación de Estados Unidos n.º 20080124345.

La inhibición de HER-3 en los tumores de páncreas humanos podría también mostrarse en un experimento farmacodinámico. Los xenoinjertos de tumores BxPC3 se hicieron crecer como se ha descrito anteriormente. se trataron 3 ratones con 500 µg de un anticuerpo IgG1 del control y se trataron 3 ratones con 500 µg del anticuerpo U1-59 dirigido contra HER-3. Se trataron los ratones en el día 1 y día 4 y a continuación se sacrificaron en el día 5 para medir la inhibición dependiente del anticuerpos de la fosforilación de HER-3 (pHER-3).

Se homogeneizaron los tumores en un tampón RIPA normalizado con inhibidores de la proteasa. Se separaron 50 µg de lisado transparente en un gel Tris-glicina al 4-20%, se transfirieron a una membrana de nitrocelulosa y se bloquearon en albúmina de suero bovino al 3% (BSA). Se llevó a cabo la inmunotransferencia utilizando un anticuerpo dirigido contra pHER-3 (anticuerpo 21D3, Cell Signaling Technology). Se usó un anticuerpo dirigido contra actina (AB a-2066, Sigma) como control.

Se detectó la expresión mediante quimioluminiscencia potenciada (Amersham Biosciences, Piscataway, NJ)). Se capturaron las imágenes con el Versadoc 5000 Imaging System (BioRad, Hercules, CA). Tras la administración del anticuerpos U1-59 dirigido contra HER-3, la fosforilación de HER-3 ya no era detectable. Véase, Figura 20 de la publicación de Estados Unidos n.º 20080124345. Por lo tanto, los anticuerpos fueron capaces de reducir significativamente la activación de HER-3 en células de tumores de páncreas humanos.

55 **Ejemplo 26: U1-59 inhibe el crecimiento tumoral en combinación con un segundo agente en estudios de xenoinjertos**

Se utilizaron modelos de xenoinjerto tumoral Calu-3 NSCLC para evaluar la eficacia de un anticuerpo dirigido contra HER-3 (U1-59) tanto solo como combinado con panitumumab o erlotinib. Para determinar la eficacia *in vivo*, los ratones que portan xenoinjertos de ~200 mm³ de Calu-3 NSCLC se trataron dos veces una semana con inhibidores de la familia dirigida contra HER-3 o el control. Se llevaron a cabo otros experimentos con células A549. En los estudios combinados con panitumumab, Se usó IgG1 como control negativo para U1-59 y se usó IgG2 como un control negativo para panitumumab. Como se muestra en la Figura 1, aunque 100 µg de U1-59 o 100 µg de panitumumab solo redujeron mucho el crecimiento tumoral en comparación con el control, la combinación de 100 µg de cada uno de los dos agentes inhibió completamente el crecimiento del tumor ($p < 0,0001$ para la combinación

frente a cualquier agente solo). En los estudios de los estudios con erlotinib, se usó IgG1 como control negativo para U1-59 y se usó vehículo de erlotinib como control negativo para erlotinib. Como se muestra en la Figura 2, la combinación de 100 µg U1-59 y 25 µg erlotinib tenían un mayor efecto inhibitorio que cualquier agente solo. La combinación de U1-59 con erlotinib fue significativamente más eficaz que U1-59 solo ($p = 0,0376$).

5 **Ejemplo 27: U1-59 en combinación con inhibidores de HER inhibe el crecimiento independiente del anclaje de las células de cáncer de mama y ovario**

10 Los experimentos se llevaron a cabo para evaluar el efecto de U1-59 en combinación con los inhibidores de HER pertuzumab, trastuzumab, o cetuximab sobre el crecimiento independiente del anclaje de SkBr-3 (basal o estimulado por HRG) y las células MDA-MB-435 de cáncer (basal). Se usó IgG como un control negativo para todos los estudios. Las colonias de células tumorales se formaron en ausencia o presencia de HRG durante 6 a 10 días y se tiñeron con MTT durante 4 a 6 horas y se cuantificaron. U1-59 como un único agente no inhibe el crecimiento de colonias de las células MDA-MB 435, pero inhibió el crecimiento de colonias en un 50% en las células SkBr-3 ($p < 0,001$), y hasta un 95% cuando se combinó con otros inhibidores de HER ($p < 0,05$). Por ejemplo, la combinación de 5 µg/ml de pertuzumab o trastuzumab con 5 µg/ml de U1-59 redujo el crecimiento independiente del anclaje en células SkBr-3 de cáncer de mama basal significativamente más que cualquier agente solo (figura 3), pertuzumab, trastuzumab, o cetuximab combinados con U1-59 fueron significativamente ($p < 0,006$) más eficaces que U1-59 solo en células SkBr-3 estimuladas con HRG (Figura 4). De manera similar, las combinaciones de U1-59 con cualquiera de pertuzumab, trastuzumab o cetuximab inhibieron la formación de colonias en la formación de células de cáncer de ovario basal (MDA-MB-435) significativamente mejor ($p < 0,002$) que U1-59 solo (Figura 5).

25 **Ejemplo 28: U1-59 en combinación con inhibidores de HER-2 o agentes quimioterapéuticos reduce la proliferación de células cancerosas**

Se llevaron a cabo estudios para evaluar el efecto de U1-59 combinado con inhibidores de HER-2 o agentes quimioterapéuticos sobre la proliferación de células cancerosas. En particular, se llevaron a cabo los siguientes experimentos en células MDA-MB-175VII de cáncer de mama:

30 *U1-59 y Trastuzumab*

Control = DMSO + 75 µg/ml de IgG1 + PBS

35 10 µg/ml de U1-59
75 µg/ml de Trastuzumab
10 µg/ml de U1-59 + 75 µg/ml de Trastuzumab

U1-59 y Lapatinib

40 Control = DMSO + 150 µg/ml de IgG1

45 73,5 µg/ml de U1-59
0,1 µM de Lapatinib
73,5 µg/ml de U1-59 + 0,1 µM de Lapatinib

U1-59 y Gemcitabina

Control = DMSO + 75 µg/ml de IgG1 + PBS

50 10 µg/ml de U1-59
1 µg/ml de Gemcitabina
10 µg/ml de U1-59 + 1 µg/ml de Gemcitabina

U1-59 y Cisplatino

55 Control = DMSO + 75 µg/ml de IgG1 + PBS

60 10 µg/ml de U1-59
1 /ml de Cisplatino
10 µg/ml de U1-59 + 1 µg/ml de Cisplatino

65 Se incubaron células MDA-MB-175VII de cáncer de mama con U1-59 y/o los otros agentes durante 1 hora antes de la estimulación con HRG. Después de cuatro días, se midió el crecimiento de las células tratadas con ALAMAR BLUE™. En estos ensayos, U1-59 redujo la proliferación de MDA-MB-175VII estimulada por HRG hasta un 40% ($p < 0,05$) como un agente único, y hasta un 80% ($p < 0,05$) cuando se combinaron con trastuzumab o lapatinib (Figuras 6A y 6B). Cabe destacar que, Se observó también actividad aditiva en células MDA-MB-175VII cuando se

combinó U1-59 con quimioterapia normalizada de atención (gemcitabina y cisplatino; $p < 0,05$ frente a cualquier agente único solo) (Figuras 6C y 6D). En cada uno de estos experimentos, la combinación de U1-59 con el inhibidor de HER-2 fue más eficaz en reducir la proliferación de células MDA-MB175VII que cualquier agente solo.

- 5 Se llevaron a cabo similares experimentos con U1-59 y pertuzumab, trastuzumab, o lapatinib en células ZR-75-30 de cáncer de mama estimuladas por HRG y células BT474 de cáncer de mama estimuladas por HRG (Figuras 7 y 8, respectivamente). En cada caso, la combinación de U1-59 y lapatinib tenía un efecto inhibitor mayor sobre la proliferación celular. En comparación con el tratamiento con el agente único solo, la combinación de U1-59 con pertuzumab o trastuzumab o lapatinib fue significativamente ($p < 0,004$) más eficaz que U1-59 solo. Combinar U1-59
10 con uno o más de pertuzumab, trastuzumab, y cetuximab en células DLD-1 de cáncer de colon estimuladas por HRG y células HCC-1569 de cáncer de mama estimuladas por HRG tuvo efectos similares, como se muestra en las Tablas 9 y 10. Además, las combinaciones de U1-59 con trastuzumab o lapatinib en células SkBr-3 de cáncer de mama estimuladas por HRG fueron también más eficaces que U1-59 solo ($p < 0,004$) (Figura 11).
- 15 En experimentos adicionales, Se cultivaron células de cabeza y cuello (FaDu) en medio de crecimiento (MEM + FBS al 10% + 1X PSG) y se trataron con controles de IgG, U1-59, panitumumab o una combinación de U1-59 con panitumab. Tras incubación durante 5 días a 37°C, Se midió la proliferación con ALAMAR BLUE™. Como un agente único, U1-59 redujo la proliferación de células FaDu de 15% a 20%, mientras que la combinación de U1-59 con panitumumab dio como resultado una reducción del 80%. La combinación de U1-59 con panitumumab dio como
20 resultado en una mejora significativa ($p = 0,001$ frente a la mejor actividad del agente único) sobre el uso de cualquier agente solo (Figura 12).

Ejemplo 29: U1-59 en combinación con otros inhibidores de HER inhiben la transducción de la señal

- 25 Se midió el efecto de U1-59 tanto solo como combinado con cetuximab, pertuzumab, trastuzumab, o lapatinib sobre la transducción de la señal en células MDA-MB-175VII de cáncer de colon sin estimular, células SkBr-3 de cáncer de mama estimuladas con HRG, las células Ls174T de cáncer de colon estimuladas con HRG, y las células HCC-1569 de cáncer de mama estimuladas con HRG. Se trataron células con agentes como se indicó en las Figuras 13-16 y se evaluó la fosforilación de HER-3, Akt, y ERK mediante transferencia Western con anticuerpos fosfoespecíficos. La
30 combinación de U1-59 con cualquiera de pertuzumab, trastuzumab, o lapatinib redujo adicionalmente la fosforilación de HER-3, Akt y ERK en todos los tipos de células ensayados en comparación con los tratamientos con agentes únicos. La combinación de U1-59 con cetuximab pareció sinergizar menos eficazmente en estos ensayos.

- Se llevaron a cabo estudios similares en células A549 epiteliales alveolares (Figura 17) y células Calu3 NSCLC (Figura 18) se trataron con U1-59 solo o U1-59 en combinación con panitumumab o lapatinib, utilizando la transferencia Western para evaluar la fosforilación de Akt, EGF-R, HER-2, HER-3, HER-4 y ERK. La combinación de U1-59 con panitumumab tuvo un efecto aparente mayor sobre la fosforilación de HER-3 en células A549, aunque la combinación fue más eficaz con respecto a la fosforilación de Akt y EGF-R en células Calu3.

- 40 Se llevaron a cabo experimentos adicionales para evaluar la eficacia *in vitro* y el crecimiento independiente del anclaje de las células A549 tratadas con 10 µg/ml de U1-59, otros Ab de la familia HER, o el mAb del control en medio que contiene suero. Las colonias de células tumorales se formaron en ausencia de ligando exógeno durante 10 días y se tiñeron con MTT y se cuantificaron utilizando el sistema de formación de imágenes de la cámara Scanalyzer HTS. U1-59 inhibió el crecimiento en un 50% ($p < 0,001$) en la línea de células A549 y dio como resultado
45 una estasis tumoral en el modelo de xenoinjerto de A549 NSCLC frente a la IgG del control u otros mAb dirigidos contra HER ($p < 0,05$).

- Estos resultados demuestran que U1-59 inhibe la señalización proximal y distal de HER-3 en las líneas de células de cáncer de mama *in vitro* y estas células de cáncer de mama son sensibles al tratamiento con U1-59 como un agente
50 único y en combinación con agentes dirigidos contra HER.

Ejemplo 30: U1-59 sensibiliza lapatinib para la actividad *in vivo*

- Para evaluar los efectos combinados de U1-59 y lapatinib *in vivo*, se implantaron células de cáncer de mama humano (HCC-1569) a ratones y se trataron con U1-59 y lapatinib tanto solos como combinados. Se dejó que los tumores alcanzaran tamaños mayores que o iguales a 100 mm³, y los ratones se trataron posteriormente con el control, lapatinib, U1-59, o una combinación de U1-59 y lapatinib. Como se muestra en la Figura 19, U1-59 solo no inhibe el crecimiento del tumor HCC-1569, y lapatinib solo produjo alguna inhibición, pero no significativa del crecimiento del tumor en comparación con el control ($p = 0,16$). La combinación de lapatinib con U1-59, sin embargo,
60 dio como resultado una inhibición significativa del crecimiento tumoral ($p < 0,02$ frente al control o $p < 0,05$ frente a lapatinib).

- Estos resultados indican que la combinación de U1-59 y lapatinib dio como resultado una inhibición sinérgica del crecimiento del tumor HCC-1569 *in vivo*. Este resultado es particularmente interesante y alentador ya que muestra que incluso los tipos tumorales que pueden no responder a U1-59 o lapatinib solo, pueden tratarse muy eficazmente con la combinación de ambos.

Ejemplo 31: Uso de anticuerpos dirigidos contra HER-3 como agentes diagnósticos

Se pueden usar mAB dirigidos contra HER-3 en el diagnóstico de enfermedades malignas. HER-3 se expresa en células tumorales de un modo muy distinto en comparación con el tejido normal y, por lo tanto, un análisis de la expresión de HER-3 ayudaría en el diagnóstico primario de los tumores sólidos, estadificando y clasificando los tumores sólidos, la evaluación de criterios pronósticos para las enfermedades y neoplasias proliferativas y la gestión del riesgo en pacientes con tumores positivos para HER-3.

A. Detección de antígeno de HER-3 en una muestra

Se desarrolló un ensayo inmunoanalítico de adsorción (ELISA) para la detección del antígeno HER-3 en una muestra. En el ensayo, pocillos de una placa de microvaloración, tales como una placa de microvaloración de 96 pocillos o una placa de microvaloración de 384 pocillos, se adsorbieron durante algunas horas con un primer anticuerpo monoclonal completamente humano dirigido contra el antígeno de HER-3. El anticuerpo inmovilizado sirve como un anticuerpo de captura para cualquiera del antígeno HER-3 que pueden estar presentes en una muestra de ensayo. Los pocillos se enjuagaron y se trataron con un agente bloqueante tal como proteína láctea o albúmina para prevenir la adsorción no específica del analito.

Posteriormente, los pocillos se trataron con una muestra de ensayo sospechosa de contener el antígeno de HER-3, o con una solución que contiene una cantidad normalizada del antígeno de HER-3. Dicha muestra es, por ejemplo, una muestra de suero de un sujeto sospechoso de tener niveles de antígeno de HER-3 en circulación considerados como diagnósticos de una patología. Tras enjuagar la muestra de ensayo o el patrón, se trataron los pocillos con un segundo anticuerpo monoclonal dirigido contra HER-3 completamente humano que se marca mediante conjugación con biotina. el anticuerpo dirigido contra HER-3 marcado sirve como un anticuerpo detector. Tras enjuagar el anticuerpo secundario en exceso, los pocillos se trataron con peroxidasa de rábano picante conjugada con avidina (HRP) y un sustrato cromogénico adecuado. La concentración del antígeno de HER-3 en las muestras de ensayo se determinó mediante comparación con una curva patrón desarrollada a partir de las muestras de patrón.

B. Detección del antígeno de HER-3 en inmunohistoquímica (IHC)

A fin de determinar el antígeno de HER-3 en las secciones de tejido mediante IHC, tejidos incluidos en parafina se desparafinaron en primer lugar en xileno durante 2 x 5 min y a continuación se hidrataron con etanol al 100% 2 x 3 min, etanol al 95% 1 min y se enjuagaron en agua destilada. Los epítomos antigénicos enmascarados mediante fijación de la formalina e inclusión en parafina se expusieron mediante desenmascaramiento de epítomos, digestión enzimática o saponina. Las secciones de parafina con desenmascaramiento de epítomos se calentaron en una olla, baño de agua u horno microondas durante 20-40 min en una solución de recuperación de epítomos como por ejemplo, una solución de HCl 2 N (pH 1,0). En el caso de una digestión enzimática, se incubaron secciones de tejido a 37°C durante 10-30 minutos en soluciones de enzimas diferentes tales como proteinasa K, tripsina, pironasa, pepsina, etc.

Tras enjuagar la solución de recuperación de epítomos o la enzima en exceso, se trataron las secciones de tejido con un tampón de bloqueo para prevenir las interacciones no específicas. Se incubó el anticuerpo primario a las diluciones adecuadas en tampón de dilución durante 1 hora a temperatura ambiente o durante la noche. Se enjuagó el anticuerpo primario en exceso y se incubaron las secciones en solución de bloqueo de peroxidasa durante 10 min a temperatura ambiente. Tras otra etapa de lavado, se incubaron las secciones de tejido con un anticuerpo secundario marcado con un grupo que puede servir como un ancla para una enzima. Los ejemplos por tanto son anticuerpos secundarios marcados con biotina que son reconocidos por la peroxidasa de rábano picante acoplada a estreptavidina. La detección del complejo anticuerpo/enzima se consigue incubando con un sustrato cromógeno adecuado.

C. determinación de la concentración de antígeno de HER-3 en suero de pacientes

Se desarrolló un ELISA de tipo sándwich para cuantificar los niveles de HER-3 en suero humano. Los dos anticuerpos monoclonales dirigidos contra HER-3 completamente humanos utilizados en el ELISA de tipo sándwich, reconocieron diferentes dominios de la molécula HER-3 y no compiten por la unión, por ejemplo (véase, Ejemplo 8). El ELISA se llevó a cabo del siguiente modo: 50 µl de anticuerpo dirigido contra HER-3 de captura en tampón de revestimiento (NaHCO₃ 0,1 M, pH 9,6) a una concentración de 2 µg/ml se revistieron sobre placas ELISA (Fisher). Tras la incubación a 4°C durante la noche, se trataron las placas con 200 µl de tampón de bloqueo (BSA al 0,5%, Tween 20 al 0,1%, Timerosal al 0,01% en PBS) durante 1 h a 25°C. Se lavaron las placas (3x) utilizando Tween 20 al 0,05% en PBS (tampón de lavado, WB). Se diluyeron sueros normal o de paciente (Clinomics, Bioreclamation) en tampón de bloqueo que contenía suero humano al 50%. Se incubaron las placas con muestras de suero durante la noche a 4°C, se lavaron con WB, y a continuación se incubaron con 100 µl/pocillo de anticuerpo dirigido contra HER-3 de detección biotinilado durante 1 h a 25°C. Tras el lavado, las placas se incubaron con HRP-Estreptavidina durante 15 min, se lavaron como antes, y a continuación se trataron con 100 µl/pocillo de o-fenilendiamina en H₂O₂ (solución de desarrollo de Sigma) para la generación de color. La reacción se detuvo con 50 µl/pocillo de H₂SO₄ (2 M) y se analizaron utilizando un lector de placas ELISA a 492 nm. Se calculó la concentración del antígeno de HER-

3 en muestras de suero por comparación con diluciones de antígeno de HER-3 purificado utilizando un programa de ajuste de curvas de cuatro parámetros.

5 Estadificación de cáncer en un paciente: Basándose en los resultados establecidos y discutidos en los puntos A, B y C, es posible estadificar un cáncer en un sujeto basándose en los niveles de expresión del antígeno de HER-3. Para un tipo dado de cáncer, se tomaron muestras de sangre de los sujetos a los que se les diagnosticó estar en diversas etapas en la progresión de la enfermedad, y/o en diversos puntos en el tratamiento terapéutico del cáncer. Se determinó la concentración del antígeno de HER-3 presente en las muestras de sangre utilizando un método que determina específicamente la cantidad del antígeno que está presente. Dicho método incluye un método ELISA, 10 dicho método se describe en los puntos A y B. Utilizando una población de muestras que proporciona resultados estadísticamente significativos de cada etapa de progresión o tratamiento, se designó un intervalo de concentraciones del antígeno de HER-3 que puede considerarse característico de cada etapa.

15 A fin de estadificar la progresión del cáncer en un sujeto en estudio, o para caracterizar la respuesta del sujeto del sujeto en un curso de tratamiento, se toma una muestra de sangre del sujeto y se determina la concentración del antígeno de HER-3 presente en la muestra. La concentración obtenida de esta manera se usa para identificar en qué intervalo de concentraciones se encuentra el valor. El intervalo identificado de esta manera puede correlacionarse con una etapa de progresión o una etapa de tratamiento identificada en las diversas poblaciones de sujetos diagnosticados, proporcionado así una etapa para el sujeto en estudio.

20 Los anticuerpos dirigidos contra HER-3 como se describe en el presente documento se usan para el tratamiento de determinados trastornos hiperproliferativos o asociados a HER-3 basándose en numerosos factores, tales como la expresión HER-3, por ejemplo. Los tipos de tumores tales como cáncer de mama, cáncer gastrointestinal, cáncer de páncreas, cáncer de próstata, cáncer de ovario, cáncer de estómago, cáncer de endometrio, cáncer de las glándulas salivales, cáncer de pulmón, cáncer de riñón, cáncer de colon, cáncer colorrectal, cáncer de tiroides, cáncer de vejiga, glioma, melanoma, y otros cánceres que expresan o expresan en exceso HER-3 son ejemplos de 25 indicaciones que se tratan con un tratamiento combinado como se describe en el presente, aunque las indicaciones no se limitan a aquellas en la lista precedente. Además, los siguientes grupos de personas pueden beneficiarse del tratamiento como se describe en el presente documento:

- 30 • Pacientes no elegibles para el tratamiento con un mAb dirigido contra HER-2
- Pacientes con resistencia a un mAb dirigido contra HER-1 o un inhibidor de molécula pequeña dirigido contra EGF-R
- 35 • Pacientes con NSCLC resistente a erlotinib o gefitinib

40 Se usan anticuerpos dirigidos contra HER-3 combinados con uno o más agentes adicionales en un "tratamiento combinado" así denominado. Dicho tratamiento combinado incluye, aunque no de forma limitativa, los agentes divulgados en el presente documento. El tratamiento combinado con anticuerpos dirigidos contra HER-3 y otros agentes pueden alargar la supervivencia del paciente, aumentar el tiempo hacia la progresión del tumor, o potenciar la calidad de vida del paciente. El diseño del protocolo y la administración abordará la eficacia terapéutica así como la capacidad de reducir las dosis usuales de tratamientos normalizados, tales como, por ejemplo, quimioterapia o radioterapia.

45 Tratamiento de seres humanos con anticuerpos dirigidos contra HER-3: Para determinar los efectos in vivo del tratamiento de anticuerpos dirigido contra HER-3 en pacientes humanos con tumores, se inyectó a dichos pacientes humanos durante un determinado periodo de tiempo una cantidad eficaz de anticuerpo dirigido contra HER-3. En lapsos de tiempo periódicos durante el tratamiento, se vigiló a los pacientes humanos para determinar si sus tumores progresan, en particular, si los tumores crecen y metastatizan.

50 Un paciente de tumor tratado con los anticuerpos dirigidos contra HER-3 tiene un nivel inferior de crecimiento y/o metástasis tumoral en comparación con el nivel de crecimiento y metástasis tumoral en pacientes de tumor tratados con la terapéutica estándar actual de atención.

55 Tratamiento con conjugados de anticuerpos dirigidos contra HER-3: Para determinar los efectos in vivo de los conjugados de anticuerpos dirigidos contra HER-3, se inyectó a pacientes humanos o animales que presentaban tumores durante un determinado periodo de tiempo una cantidad eficaz de conjugado de anticuerpo dirigido contra HER-3. Por ejemplo, el conjugado de anticuerpo dirigido contra HER-3 administrado es el conjugado de anticuerpo DM1 dirigido contra HER-3, un conjugado de anticuerpo de auristatina dirigido contra HER-3 o un conjugado de anticuerpo de radioisótopo dirigido contra HER-3. En lapsos de tiempo periódicos durante el tratamiento, se vigiló a 60 los pacientes humanos o animales para determinar si sus tumores progresan, en particular, si los tumores crecen y metastatizan.

65 Un paciente humano o animal que presenta tumores y experimenta tratamiento con, por ejemplo, conjugados de anticuerpos DM1 dirigidos HER-3 y conjugados de anticuerpos de radioisótopos dirigidos contra HER-3 tienen un nivel inferior de crecimiento y metástasis tumoral cuando se comparan con un paciente o animal del control que presentan tumores y que experimentan tratamiento con una terapia alternativa. Los anticuerpos DM1 del control que

se pueden usar en animales incluyen conjugados que comprenden DM1 unido a anticuerpos del mismo isotipo de los anticuerpos dirigidos contra HER-3, pero más específicamente, no tienen la capacidad de unirse al antígeno del tumor HER-3. Los anticuerpos con radioisótopos del control que se pueden usar en ensayos animales incluyen conjugados que comprenden radioisótopos unidos a anticuerpos del mismo isotipo de los anticuerpos dirigidos contra HER-3, pero más específicamente, no tienen la capacidad de unirse al antígeno del tumor HER-3. Nota: los conjugados del control no se administrarían a seres humanos.

Ejemplo 33: Identificación primera en dosis humanas y calendario de mAb dirigido contra HER-3 basándose en la farmacocinética preclínica, datos de farmacodinámica y eficacia

Se llevaron a cabo estudios para utilizar la modelación preclínica para predecir un régimen de dosificación mínimamente eficaz para la respuesta objetivo utilizando la farmacocinética preclínica (PK), Eficacia antitumoral en ratones del xenoinjerto BxPC3, y datos de farmacodinámica (PD).

Se trataron ratones que portaban xenoinjertos pancreáticos BxPC3 establecidos de $\sim 200\text{mm}^3$ dos veces por semana con U1-59 a 25, 100, 200, 500 $\mu\text{g}/\text{ratón}$. Se analizó la inhibición de pHER en tumores de xenoinjerto BxPC3 mediante transferencia western. Se utilizó un modelo de eficacia de PK/PD (basándose en Simeoni et al. (2004) Cancer Res. 64:1094-1101) para seleccionar de forma prospectiva la dosis y el calendario para la prueba adicional. Para confirmar el modelo de eficacia de PK/PD, se trataron ratones portadores de tumor BxPC3 de páncreas con 400 $\mu\text{g}/\text{ratón}$ bisemanalmente y 200 $\mu\text{g}/\text{ratón}$ bisemanalmente, semanalmente y dos veces a la semana. Se usó el escalado interespecie basándose en el peso corporal (BW) para predecir los parámetros PK de U1-59 en un ser humano sobre la base de las concentraciones en suero obtenidas en ratones, ratas y monos. Se utilizó la relación entre la concentración de fármaco, la inhibición de pHER-3 en animales, y el escalado de la PK interespecie para seleccionar la dosis mínimamente eficaz para la primera en el estudio con seres humanos.

el tratamiento de U1-59 con xenoinjertos BxPC3 dio como resultado una inhibición estadísticamente significativa del crecimiento tumoral y los niveles de pHER-3 en una manera dependiente de la dosis y el calendario ($p < 0,05$). El tratamiento con U1-59 a 400 $\mu\text{g}/\text{ratón}$ bisemanalmente y 200 $\mu\text{g}/\text{ratón}$ bisemanalmente, semanalmente y dos veces a la semana dieron como resultado un 50%, 33%, 74% y 70% de inhibición e crecimiento tumoral ($p < 0,05$), un 30%, 58%, 23% y 20% de inhibición de pHER-3 (transferencia Western cuantitativa) frente al grupo tratado con la IgG del control, respectivamente. Las concentraciones en suero de U1-59 en la necropsia para los grupos de dosis respectivos fueron (media (SD)) de 2,07 (0,97), 0,45 (0,21), 3,08 (0,82) y 34,9 (9,1) $\mu\text{g}/\text{ml}$, respectivamente. Se estimó que la concentración mínima estimada necesaria para conseguir una inhibición de pHER-3 máxima del 90% (CI_{90}) era de $\sim 3 \mu\text{g}/\text{ml}$. El modelo de eficacia de PK/PD predijo un volumen tumoral medio ($R^2 = 0,925$). Se estimaron que el espacio libre (CL) y el volumen inicial de distribución (Vd) en el hombre eran 11 $\text{ml}/\text{día}/\text{kg}$ y 28 ml/kg . La comparación de los perfiles de PK humana simulados sugirió que las dosis bimensuales $> 3 \text{mg}/\text{kg}$, que deberían presentar una PK lineal, pueden dar como resultado $> 90\%$ de inhibición de pHER-3 durante un intervalo de dosificación de dos semanas.

La eficacia antitumoral en el modelo de xenoinjerto BxPC3 de páncreas estaba correlacionada con una concentración en suero aumentada de U1-59 y una disminución en los niveles de pHER-3, permitiendo el desarrollo de una relación de eficacia de PK/PD. Se utilizó esta relación para determinar una dosis y un calendario para U1-59 para investigar primero en un estudio humano (FIH).

Ejemplo 34: Estudios de reactivación

Se sembraron en placas células A549 en medio F-12 de Ham (Gibco), se suplementaron todos los medios con FBS al 10% (Hyclone, Logan, UT) y 1X L-glutamina (Gibco). Se privaron las células de suero durante la noche. Se cambiaron los medios a medio exento de suero reciente y se trataron las células con 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ de U1-59 o gefitinib 5 μM solo, o combinación de U1-59 y gefitinib, durante 1 o 24 horas a 37°C. se lavaron las células con PBS frío después de sus respectivos puntos de tiempo de tratamiento y se lisaron utilizando tampón RIPA (Tris-HCl 20 mM pH 7,5, Igepal al 1%, desoxicolato de sodio al 1%, NaCl 150 mM, SDS al 0,1%, Triton X-100 al 1%) que contenía 200 μM de fluoruro de fenilmetanosulfonilo (PMSF) (Fluka Biochemica), 200 μM del kit del cóctel inhibidor de la proteasa Halt (Pierce Biotechnology), y 200 μM de ortovanadato de sodio (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO). Se pasaron los lisados a través de columnas desfibradoras QIA (Qiagen) y se cuantificó el flujo a su través utilizando un espectrofotómetro (Beckman Coulter, Fullerton, CA). Se analizaron las proteínas, 50 μg por pocillo, por duplicado para pHER3 utilizando ELISA Duoset (R&D systems) de acuerdo con el protocolo del fabricante. En la FIGURA 20 se muestran los resultados.

OTRAS REALIZACIONES

Debe entenderse que el alcance de la invención se define mediante el alcance de las reivindicaciones adjuntas.

TABLA 10: Secuencias CDR

Cadena AB	PAT ID:	SEQ ID:	CDR1	SEQ ID:	CDR2	SEQ ID:	CDR3
pesada	U1-1	235	GGINSGDY YWS	258	YIYSGSTY YNPSLKS	283	ADYDFWSG YFDY
ligera	U1-1	318	RASQGIRND LG	343	AASSLQS	360	LQHNSYPWT
pesada	U1-2	236	GGISSGDY YWS	259	YIYSGSTY YNPSLRS	283	ADYDFWSG YFDY
ligera	U1-2	318	RASQGIRND LG	343	AASSLQS	361	LQHNGYPW T
pesada	U1-3	237	GGISSGDY YWS	258	YIYSGSTY YNPSLKS	284	DGYDSSGY YHGYFDY
ligera	U1-3	319	KSSQSVLYS SNNKNYLA	344	WASTRES	362	QQYYSTPLT
pesada	U1-4	236	GGISSGDY YWS	258	YIYSGSTY YNPSLKS	283	ADYDFWSG YFDY
ligera	U1-4	318	RASQGIRND LG	343	AASSLQS	363	LQHNNYPW T
pesada	U1-5	236	GGISSGDY YWS	258	YIYSGSTY YNPSLKS	283	ADYDFWSG YFDY
ligera	U1-5	318	RASQGIRND LG	343	AASSLQS	364	LQHNTYPW T
pesada	U1-6	236	GGISSGDY YWS	258	YIYSGSTY YNPSLKS	285	ADYDFWNG YFDY
ligera	U1-6	318	RASQGIRND LG	343	AASSLQS	364	LQHNTYPW T
pesada	U1-7	236	GGISSGDY YWS	258	YIYSGSTY YNPSLKS	283	ADYDFWSG YFDY

Cadena AB	PAT ID:	SEQ ID:	CDR1	SEQ ID:	CDR2	SEQ ID:	CDR3
ligera	U1-7	320	RASQDIRND LG	343	AASSLQS	360	LQHNSYPWT
pesada	U1-8	238	GYTLTELSM Y	260	GFPEDGETI YAQKFQG	286	GWNYVFDY
ligera	U1-8	321	RSSQSLLS NGYNYLD	345	LDSHRAS	365	MQALQTPLT
pesada	U1-9	236	GGSSSGDY YWS	258	YIYSGSTY YNPSLKS	285	ADYDFWNG YFDY
ligera	U1-9	320	RASQDIRND LG	343	AASSLQS	360	LQHNSYPWT
pesada	U1-10	236	GGSSSGDY YWS	258	YIYSGSTY YNPSLKS	283	ADYDFWWSG YFDY
ligera	U1-10	318	RASQIRND LG	343	AASSLQS	363	LQHNNYPW T
pesada	U1	236	GGSSSGDY YWS	258	YIYSGSTY YNPSLKS	283	ADYDFWWSG YFDY
ligera	U1-11	318	RASQIRND LG	343	AASSLQS	364	LQHNTYPW T
pesada	U1-12	236	GGSSSGDY YWS	258	YIYSGSTY YNPSLKS	283	ADYDFWWSG YFDY
ligera	U1-12	318	RASQIRND LG	343	AASSLQS	363	LQHNNYPW T
pesada	U1-13	237	GGSSSGDY YWS	258	YIYSGSTY YNPSLKS	287	EDDGMVDV

Cadena AB	PAT ID:	SEQ ID:	CDR1	SEQ ID:	CDR2	SEQ ID:	CDR3	
ligera	U1-13	322	RSSQLLHS NGYNYLE	346	LGSNRAS	366	MQALQTPIT	
pesada	U1-14	236	GGSISSGDY YWS	258	YIYYSGSTY YNPSLKS	283	ADYDFWWSG YFDY	
ligera	U1-14	318	RASQIRND LG	343	AASSLQS	364	LQHNTYPW T	
pesada	U1-15	239	GGSVSSGGY YWS	261	YIYYSGSTN YNPSLKS	288	DGDVDTAM VD/AFDI	
ligera	U1-15	323	RASQSLSGN YLA	347	GASSRAT	367	QQYDRSPLT	
pesada	U1-16	236	GGSISSGDY YWS	258	YIYYSGSTY YNPSLKS	283	ADYDFWWSG YFDY	
ligera	U1-16	318	RASQIRND LG	343	AASSLQS	360	LQHNSYPWT	
pesada	U1-17	236	GGSISSGDY YWS	262	YIYYSGSTY YNSSLKS	283	ADYDFWWSG YFDY	
ligera	U1-17	318	RASQIRND LG	343	AASSLQS	360	LQHNSYPWT	
pesada	U1-18	236	GGSISSGDY YWS	258	YIYYSGSTY YNPSLKS	283	ADYDFWWSG YFDY	
ligera	U1-18	318	RASQIRND LG	343	AASSLQS	360	LQHNSYPWT	
pesada	U1-19	236	GGSISSGDY YWS	258	YIYYSGSTY YNPSLKS	289	GDYDFWWSG EFDY	
ligera	U1-19	secuencia no disponible						

Cadena AB	PAT ID:	SEQ ID:	CDR1	SEQ ID:	CDR2	SEQ ID:	CDR3
pesada	U1-20	237	GGSISSGGY YWS	263	YIYDSGSTYY NPSLKS	290	DQQDGGYS YGYGYYYG MDV
ligera	U1-20	324	QASQDISNY LN	348	VASNLET	368	QQCDNLPLT
pesada	U1-21	236	GGSISSGDY YWS	258	YIYYSGSTYY NPSLKS	283	ADYDFWWSG YFDY
ligera	U1-21	320	RASQDIRND LG	349	AASRLOS	360	LQHNSYPWT
pesada	U1-22	236	GGSISSGDY YWS	258	YIYYSGSTYY NPSLKS	283	ADYDFWWSG YFDY
ligera	U1-22	318	RASQGIRND LG	350	AASSLQN	360	LQHNSYPWT
pesada	U1-23	236	GGSISSGDY YWS	258	YIYYSGSTYY NPSLKS	283	ADYDFWWSG YFDY
ligera	U1-23	318	RASQGIRND LG	343	AASSLQS	360	LQHNSYPWT
pesada	U1-24	236	GGSISSGDY YWS	258	YIYYSGSTYY NPSLKS	285	ADYDFWWSG YFDY
ligera	U1-24	318	RASQGIRND LG	343	AASSLQS	363	LQHNNYPW T
pesada	U1-25	236	GGSISSGDY YWS	258	YIYYSGSTYY NPSLKS	283	ADYDFWWSG YFDY
ligera	U1-25	318	RASQGIRND LG	350	AASSLQN	360	LQHNSYPWT

Cadena AB	PAT ID:	SEQ ID:	CDR1	SEQ ID:	CDR2	SEQ ID:	CDR3
pesada	U1-26	236	GGSISSGDY YWS	258	YIYSGSTYY NPSLKS	291	ADYDFWSG YFDF
ligera	U1-26	318	RASQGIRND LG	343	AASSLQS	361	LQHNGYPW T
pesada	U1-27	236	GGSISSGDY YWS	258	YIYSGSTYY NPSLKS	291	ADYDFWSG YFDF
ligera	U1-27	318	RASQGIRND LG	343	AASSLQS	361	LQHNGYPW T
pesada	U1-28	236	GGSISSGDY YWS	258	YIYSGSTYY NPSLKS	292	ADYDFWSG YFDS
ligera	U1-28	318	RASQGIRND LG	343	AASSLQS	361	LQHNGYPW T
pesada	U1-29	240	GFTFNSYDM H	264	VIWYDGSNK YYADSVKG	293	DRLCTINGVC YEDYGM DV
ligera	U1-29	324	QASQDISNY LN	351	DASNLET	369	QHYDTLPLT
pesada	U1-30	236	GGSISSGDY YWS	265	YIYSGTYY NPSLKS	283	ADYDFWSG YFDY
ligera	U1-30	325	RAGQGIRND LG	343	AASSLQS	360	LQHNSYPWT
pesada	U1-31	241	GYTFINYGI S	266	WISAYDGYR NYAQLQG	294	DVQDYGDY DYFDY
ligera	U1-31	326	RASQISSYL N	343	AASSLQS	370	QQSYSTPIT

Cadena AB	PAT ID:	SEQ ID:	CDR1	SEQ ID:	CDR2	SEQ ID:	CDR3
pesada	U1-32	236	GGSISSGDY YWS	265	YIYSGTTTY NPSLKS	283	ADYDFWSG YFDY
ligera	U1-32	325	RAGQGIRND LG	343	AASSLQS	360	LQHNSYPWT
pesada	U1-33	236	GGSISSGDY YWS	258	YIYSGSTTY NPSLKS	295	ADYDFWSG HFDC
ligera	U1-33	327	RASQGIRDD LG	352	AESSLQS	371	LQHNSYPWT
pesada	U1-34	241	GYFTNYGI S	266	WISAYDGYR NYAQLQG	294	DVQDYGDY DYFDY
ligera	U1-34	326	RASQISSYL N	343	AASSLQS	370	QQSYSTPIT
pesada	U1-35	242	GFTFSDYIM S	267	YISSGNNIY HADSVKG	296	ERYSGYDDP DGFDI
ligera	U1-35	328	QASQDISNY LS	351	DASNLET	372	QQYDNPPCS
pesada	U1-36	243	GGSISSGYY YWS	268	YIYSGTTTY NPSFKS	297	ADYDFWSG HFYD
ligera	U1-36	318	RASQGIRND LG	343	AASSLQS	360	LQHNSYPWT
pesada	U1-37	244	GYFTSYGIS	269	WISAYDGHT NYAQLQG	298	DPHDYSNYE AFDF
ligera	U1-37	326	RASQISSYL N	343	AASSLQS	370	QQSYSTPIT

Cadena AB	PAT ID:	SEQ ID:	CDR1	SEQ ID:	CDR2	SEQ ID:	CDR3
pesada	U1-38	245	GFSLSTSGV GVG	270	LIYWNDDKR YSPSLKS	299	RDEVRFDFY
ligera	U1-38	329	RSSQSLVYS DGYTYLH	353	KVSNWDS	373	MIQGAHWPI T
pesada	U1-39	246	GFTVSSNYM S	271	VIYSSGGSTYY ADSVKKG	300	GQWLDV
ligera	U1-39	321	RSSQSLLS NGYNYLD	354	LGHRAS	374	RQALQTPLT
pesada	U1-40	237	GGSSSSGGY YWS	272	YIYSSGGSTYY NPSLKS	301	DRELELYYY YYGMDV
ligera	U1-40	330	RSSQSLLS NGYNYLD	346	LGSNRAS	365	MQALQTPLT
pesada	U1-41	237	GGSSSSGGY YWS	258	YIYSSGGSTYY NPSLKS	302	DRELEGYSN YYGVVDV
ligera	U1-41	331	RASQAISNY LN	343	AASSLQS	375	QQNNSLPIT
pesada	U1-42	247	GYSFTSYWI G	273	IIPGDSSTR YSPSFQG	303	HENYGDYN Y
ligera	U1-42	332	RASQIRSYL N	343	AASSLQS	376	QQSNGSPLT
pesada	U1-43	237	GGSSSSGGY YWS	259	YIYSSGGSTYY NPSLRS	304	DREREWDD YGDPPQGMID V
ligera	U1-43	333	RASQISSYL H	343	AASSLQS	377	QQSYSNPLT

Cadena AB	PAT ID:	SEQ ID:	CDR1	SEQ ID:	CDR2	SEQ ID:	CDR3
pesada	U1-44	247	GYSFTSYWI G	274	IIWPGDSDTI YSPSFQG	303	HENYGDYN Y
ligera	U1-44	332	RASQSIRSYL N	343	AASSLOS	378	QOQISSPLT
pesada	U1-45	248	GYTFTSYDI N	275	WMNPNSGDT GYAQVFQG	305	FGDLPYDYS YYEWFDP
ligera	U1-45	326	RASQISSYL N	343	AASSLOS	379	QOQYSTPLT
pesada	U1-46	249	GDSVSSNSA AWN	276	RTYRSKWKY NDYAVSVKS	306	DLYDFWSG YPYYYYGMD V
ligera	U1-46	secuencia no disponible					
pesada	U1-47	249	GDSVSSNSA AWN	276	RTYRSKWKY NDYAVSVKS	307	DYYGSGSFY YYYYGMDV
ligera	U1-47	326	RASQISSYL N	355	AASNLOS	380	QOQYSTPRT
pesada	U1-48	250	GGSISSYYW S	277	HIYTSGSTNY NPSLKS	308	EAIKGVGPY YYYYGMDV
ligera	U1-48	secuencia no disponible					
pesada	U1-49	251	GYTFTGY MH	278	WINPNIIGGTN CAQKFQG	309	GGRYSSWS YYYYGMDV
ligera	U1-49	334	KSSQSLLS DGGTYLY	356	EVSNRFS	381	MOSMQLPIT
pesada	U1-50	239	GGSVSSGGY YWS	261	YIYSGSTNY NPSLKS	310	GGDSNYED YYYYYGM V

Cadena AB	PAT ID:	SEQ ID:	CDR1	SEQ ID:	CDR2	SEQ ID:	CDR3	
ligera	U1-50	335	RASQSIYLYL H	343	AASSLQS	382	QQSYTSPIT	
pesada	U1-51	250	GGSISSYYW S	261	YIYYSGSTNY NPSLKS	311	DSSYYDSSG YYLYYYAM DV	
ligera	U1-51	319	KSSQSVLYS SNNKNYLA	344	WASTRES	383	QQYTTPLT	
pesada	U1-52	237	GGSISSGGY YWS	279	NIYYSGSTYY NPSLKS	312	GGTGTNYY YYYGMDV	
ligera	U1-52	336	RASQSVSSS YLA	357	GASSWAT	384	QQYGSSPLT	
pesada	U1-53	252	GFTFSIYSM N	280	YISSSSSTIYY ADSVKG	313	DRGDFDAFD I	
ligera	U1-53	337	QASQDITNY LN	351	DASNLET	385	QQCENFPIT	
pesada	U1-55.1	253	GGSVSSGGY YWN	281	YINYSGSTNY NPSLKS	301	DRELELYYY YYGMDV	
ligera	U1-55.1	mismo que U1-55						
pesada	U1-55	será el mismo que U1-55.1						
ligera	U1-55	338	RSSQSLLYS NGYKYLD	346	LGSNRAS	366	MQALQTPIT	
pesada	U1-57.1	mismo que U1-57						
ligera	U1-57.1	338	RSSQSLLYS NGYKYLD	346	LGSNRAS	366	MQALQTPIT	
pesada	U1-57	254	GGSVSSGGY YWN	281	YINYSGSTN YNPSLKS	301	DRELELYYY YYGMDV	

Cadena AB	PAT ID:	SEQ ID:	CDR1	SEQ ID:	CDR2	SEQ ID:	CDR3
ligera	U1-57	será el mismo que U1-57.1					
pesada	U1-58	255	GFTFSSYGM H	264	VIWYDGSNK YYADSVKKG	314	AARLDYYY GMDV
ligera	U1-58	339	RASQSINSY LN	358	GASGLQS	386	QQSYSSPLT
pesada	U1-59	256	GGFSFGYY W/S	282	EINHSGSTNY NPSLKS	315	DKWTWYFD L
ligera	U1-59	340	RSSQSVLYS SSNRNYLA	344	WASTRES	387	QQYYSTPRT
pesada	U1-61.1	257	GVSISGGY YWS	258	YIYSGSTYY NPSLKS	316	DSESEYSSSS NYGMDV
ligera	U1-61.1	mismo que U1-61.1					
pesada	U1-61	257	GVSISGGY YWS	258	YIYSGSTYY NPSLKS	316	DSESEYSSSS NYGMDV
ligera	U1-61	341	RASQTISSYL N	359	AASSLQG	377	QQSYSNPLT
pesada	U1-62	247	GYSFTSYWI G	273	IHYPGDSDTR YSPSFQG	317	QMAGNYYY GMDV
ligera	U1-62	342	RASQSVISYI LA	347	GASSRAT	388	QQYGSSPCS

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> HETTMANN, THORE FREEMAN, DANIEL J. RADINSKY, ROBERT

5 <120> MATERIALES Y MÉTODOS PARA TRATAR O PREVENIR LAS ENFERMEDADES ASOCIADAS A HER-3

<130> 0152-004001

10 <140>
<141>

<150> 61/261.149

<151> 13/11/2009

15 <160> 390

<170> PatentIn versión 3.5

20 <210> 1
<211> 342
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

25 <220>
<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético

<400> 1

gaggtgcagc tgggtggagtc tggaggaggc ttgatccagc ctgggggggtc cctgagactc	60
tcctgtgcag cctctggggtt caccgtcagt agcaactaca tgagctgggt ccgccaggct	120
ccaggaaggg ggctggattg ggtctcagtt atttatagcg gtggtagcac atactacgca	180
gactccgtga agggccgatt caccatctcc agagacaatt ccaagaacac gctgtatctt	240
caaatgaaca gcctgagagc cgaggacacg gccgtgtatt actgtgagag agggcagtg	300
ctggacgtct ggggccaaag gaccacggtc accgtctcct ca	342

30

35 <210> 2
<211> 114
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

40 <400> 2

ES 2 647 466 T3

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

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

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

Ser Val Ile Tyr Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 50 55 60

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

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

Arg Gly Gln Trp Leu Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val
 100 105 110

Ser Ser

5 <210> 3
 <211> 336
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético
 <400> 3

gatattgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgtca cccctggaga gccggcctcc 60
 atctcctgca ggtcaagtca ggcctcctg catagtaatg gatacaacta tttggattgg 120
 tacctgcaga ggccagggca gtctccacaa ctctgttct atttgggtt tcatcgggcc 180
 tccgggtcc ctgacaggtt cagtggcagt ggatcaggca cagattttac actgaaaatc 240
 agcagagtgg aggctgagga tgttgggtt tattactgca ggcaagctct acaaactccg 300
 ctcactttcg ggggaggac caaggtggag atcaaa 336

15 <210> 4
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

ES 2 647 466 T3

<400> 4

```

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

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

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

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

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

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

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

5 <210> 5
 <211> 374
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético

<400> 5

```

cagggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcacagac cctgtccctc      60
acctgtactg tctctggtgg ctccatcagc agtggtggtt actactggag ctggatccgc      120
cagcaccagc ggaagggcct ggagtggatt gggtagatct attccagtgg gagcacctac      180
tacaaccgct cctcaagag tgcagttacc atatcagtag acacgtctaa gaaccagttc      240
tcctgaagc tgagctctgt gactgccgcg gacacggccg tgtattactg tgcgagagat      300
agggaactgg aactttacta ctactactac ggtatggacg tctggggcca agggaccacg      360
gtcaccgtct cctc                                     374
    
```

15 <210> 6
 <211> 124
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

25 <400> 6

ES 2 647 466 T3

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

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

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

Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Ser Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
 50 55 60

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

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

Cys Ala Arg Asp Arg Glu Leu Glu Leu Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met
 100 105 110

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

5 <210> 7
 <211> 336
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético
 <400> 7

gatattgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgtca cccttgaga gccggcctcc 60
 atctcctgca ggtctagtca gagcctcctg tatagtaatg gatacaacta tttggattgg 120
 tacctgcaga agccagggca gtctccacag ctctgatct atttgggttc taatcgggcc 180
 tccgggggtcc ctgacagggt cagtggcagt ggatcaggca cagattttac actgaaaatc 240
 agcagagtgg aggctgagga tgttgggatt tattactgca tgcaagctct acaaactccg 300
 ctcactttcg gcggaggac caaggtggag atcaaa 336

15 <210> 8
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

ES 2 647 466 T3

<400> 8

```

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

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

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

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

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

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

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

5 <210> 9
 <211> 357
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético

<400> 9

```

cagatcacct tgaaggagtc tggctoctacg ctggtgaaac ccacacagac cctcacgctg      60
acctgcacct tctctggggt ctcactcagc actagtggag tgggtgtggg ctggatccgt      120
cagccccag gaaaggccct ggactggcct gcactcattt attggaatga tgataagcgc      180
tacagcccat ctctgaagag caggctcacc atcaccaagg acacctcaa aaaccaggtg      240
gtccttacia tgaccaacat ggatcttgtg gacacagcca catattactg tgtacacaga      300
gacgaagttc gagggtttga ctactggggc cagggaaccc tggtcaccgt ctctca      357
    
```

15 <210> 10
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

25 <400> 10

ES 2 647 466 T3

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

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

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

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

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

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

Cys Val His Arg Asp Glu Val Arg Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

5 <210> 11
 <211> 336
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético
 <400> 11

gatgttgtga tgactcagtc tcaactctcc ctgcccgta ccottggaca gccggcctcc 60
 atctcctgca ggtctagtca aagcctcgta tacagtgatg gatacaccta cttgcattgg 120
 tttcagcaga ggccaggcca atctccaagg cgccttattt ataaggtttc taactgggac 180
 tctgggggtcc cagacagatt cagcggcagt gggtcaggca ctgatttcac actgaaaatc 240
 agcaggggtgg aggctgagga tgttgggggt tattactgca tgcaaggtgc aactggccc 300
 atcaccttgc gcccaaggac acgactggag attaaa 336

15 <210> 12
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético
 <400> 12

ES 2 647 466 T3

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

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

Asp Gly Tyr Thr Tyr Leu His Trp Phe Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser
 35 40 45

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

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

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

Ala His Trp Pro Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
 100 105 110

5 <210> 13
 <211> 374
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético

<400> 13

caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcacagac cctgtccctc 60
 acctgcactg tctctggtgg ctccatcagc agtgggtgggt actactggag ctggatccgc 120
 cagcaccag ggaagggcct ggagtggatt gggtagatct attacagtgg gagcacctac 180
 tacaaccogt ccctcaagag tcgagttacc atatcagtag acacgtctaa gaaccagttc 240
 tcctgaagc tgagctctgt gactgccgcg gacacggccg tgtatttctg tgcgagagat 300
 cgggaacttg agggttactc caactactac ggtgtggacg tctggggcca agggaccacg 360
 gtcaccgtct cctc 374

15 <210> 14
 <211> 124
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

ES 2 647 466 T3

<400> 14

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

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

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

Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
 50 55 60

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

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

Cys Ala Arg Asp Arg Glu Leu Glu Gly Tyr Ser Asn Tyr Tyr Gly Val
 100 105 110

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

5

<210> 15
 <211> 321
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético

15

<400> 15

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgcc gggcaagtca ggccattagc aactatttaa attggtatca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
 aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
 gaagattttg caacttatta ctgtcaacag aataatagtc tcccgatcac cttcggccaa 300
 gggacacgac tggagattaa a 321

20

<210> 16
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

ES 2 647 466 T3

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

5 <400> 16

```

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 Ala Ile Ser Asn Tyr
20 25 30

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

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln 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 Asn Asn Ser Leu Pro Ile
85 90 95

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

```

<210> 17

10 <211> 354

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético

<400> 17

```

gagggtgcagc tgggtgcagtc tggagcagag gtgaaaaagc cgggggagtc tctgaagatc 60
tctctgtaagg gttctggata cagctttacc agctactgga tgggctgggt ggcocoagatg 120
cccgggaaag gcctggagtg gatggggatc atctatctctg gtgactctga taccagatac 180
agcccgtcct tccaaggcca ggtcaccatc tcagccgaca agtccatcag caccgcctac 240
ctgcagtgga gcagcctgaa ggcctcggac accgccatgt attactgtgc gagacatgaa 300
aactacggtg actacaacta ctggggccag ggaaccctgg tcaccgtctc ctca 354

```

20 <210> 18

<211> 118

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

25 <220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

ES 2 647 466 T3

<400> 18

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

5 <210> 19
 <211> 321
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético

<400> 19

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtcggaga cagagtcacc 60
 atcaacttgcc gggcaagtca gagcattegc agctatttaa attggtatca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcttccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
 aggttcagtg gcagtgatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
 gaagattttg cactttactg ctgtcaacag agtaacggtt ccccgctcac tttcggcgga 300
 15 gggaccaagg tggagatcaa a 321

<210> 20
 <211> 107
 <212> PRT
 20 <213> Secuencia artificial

ES 2 647 466 T3

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

<400> 20

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 Ser Ile Arg Ser Tyr
20 25 30

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

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln 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 Leu Tyr Cys Cys Gln Gln Ser Asn Gly Ser Pro Leu
85 90 95

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

<210> 21

<211> 380

10

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético

15

<400> 21

caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcacagac cctgtccctc 60
acctgcactg tctctggtgg ctccatcagc agtggtggtt actactggag ctggatccgc 120
cagcaccag ggaagggcct ggagtggatt gggtagatct attacagtgg gagcacctac 180
tacaaccggt ccctcaggag tcgagttacc atatcagtag acacgtctaa gaaccagttc 240
tcctgaagc tgagctctgt gactgccgcg gacacggccg tgtattactg tgcgagagat 300
agagagagag agtgggatga ttacggtgac cccaaggtg tggacgtctg gggccaaggg 360
accacggtca ccgtctctc 380

20

<210> 22

<211> 126

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

25

<220>

ES 2 647 466 T3

<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

<400> 22

5

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

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

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

Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

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

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

Cys Ala Arg Asp Arg Glu Arg Glu Trp Asp Asp Tyr Gly Asp Pro Gln
100 105 110

Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser
115 120 125

<210> 23

<211> 321

10

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético

15

<400> 23

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc agctatttac attggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagctcct gatccatgct gcatccagtt taaaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagtag tctgcaacct 240
gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta acccgctcac tttcgggcga 300
gggaccaagg tggagatcca a 321

20

<210> 24

<211> 107

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

ES 2 647 466 T3

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

<400> 24

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 Ser Ile Ser Ser Tyr
                20           25           30

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

His Ala Ala Ser Ser Leu Gln 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 Ser Asn Pro Leu
                85           90           95

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

<210> 25

<211> 354

10

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético

15

<400> 25

```

gaggtgcagc tgggtgcagtc tggagcagag gtgaaaaagc ccggggagtc tctgaagatc      60
tctgtaaagg gttctggata cagctttacc agctactgga tcggctgggt gcgccagatg      120
cccgggaaag gcctggagtg gatggggatc atctggcctg gtgactctga taccatatac      180
agcccgctct tccaaggcca ggtcaccatc tcagccgaca agtccatcag caccgcctac      240
ctgcagtgga gcagcctgaa ggccctcggac accgccatgt attactgtgc gagacatgaa      300
aactacgggtg actacaacta ctggggccag ggaaccctgg tcaccgtctc ctca          354
    
```

20

<210> 26

<211> 118

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

ES 2 647 466 T3

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

<400> 26

5

```

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

<210> 27

<211> 321

10

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético

15

<400> 27

```

gacatocaga tgaccocagtc tocatocctcc ctgtctgcat ctgtgggaga cagagtcacc      60
atcacttgcc gggcaagtca gagcattoga agttatttaa attggtatca gcagaaaccg      120
gggaatgcc ctaaactoct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca      180
aggttcagtg gcagtggate tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct      240
gaagattttg cactttacta ctgtcaacag agtatcagtt ccccgctcac tttcggcgga      300
gggaccaagg tggagatcaa a                                                    321
    
```

20

<210> 28

<211> 107

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

ES 2 647 466 T3

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

<400> 28

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 Ser Ile Arg Ser Tyr
20 25 30

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

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln 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 Leu Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Ile Ser Ser Pro Leu
85 90 95

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

<210> 29

<211> 374

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

10

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético

<400> 29

15

cagggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60
tcctgcaagg cttctggata caccttcacc agttatgata tcaactgggt ggcacaggcc 120
actggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atgaacccta acagtgggtga cactggctat 180
gcacaggtgt tccagggcag agtcaccatg acctggaaca cctccataag cacagcctac 240
atggaactga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagatttggg 300
gatctcccgat atgactacag ttactacgaa tggttcgacc cctggggcca gggaaacctg 360
gtcaccgtct cctc 374

<210> 30

<211> 124

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20

ES 2 647 466 T3

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

<400> 30

5

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Asp Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Thr Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Met Asn Pro Asn Ser Gly Asp Thr Gly Tyr Ala Gln Val Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Trp Asn Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Phe Gly Asp Leu Pro Tyr Asp Tyr Ser Tyr Tyr Glu Trp Phe
100 105 110

Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
115 120

<210> 31

<211> 321

10

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético

15

<400> 31

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcaagcca gagcattagc agctatttaa attggtatca gcagagacca 120
gggaaagccc ctaagctcct gatctatgca gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta ccccgctcac tttcgggcga 300
gggaccaagg tggagatcaa a 321

20

<210> 32

<211> 107

ES 2 647 466 T3

<212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

<400> 32

```

    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 Ser Ile Ser Ser Tyr
                                20                               25                               30

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

    Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln 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 Ser Thr Pro Leu
                                85                               90                               95

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

10 <210> 33
 <211> 386
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético

20 <400> 33

```

    caggtacagc tgcagcagtc aggtccagga ctggtgaagc cctcgcagac cctctcactc      60
    acctgtgcc a tctccgggga cagtgtctct agcaacagtg ctgcttgaa ctggatcagg      120
    cagtcccat cgagaggcct tgagtggctg ggaaggacat actacaggtc caagtggat      180
    aatgattatg cagtatctgt gaaaagtcga ataaccatca acccagacac atccaagaac      240
    cagttctccc tgcagctgaa ctctgtgact cccgaggaca cggctgtgta ttactgtgca      300
    agagatctct acgatttttg gagtggttat ccctactact acggtatgga cgtctggggc      360
    caagggacca cggtcaccgt ctctc      386
    
```

25 <210> 34
 <211> 128
 <212> PRT

ES 2 647 466 T3

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

5

<400> 34

```

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Ile Ser Gly Asp Ser Val Ser Ser Asn
 20                25                30

Ser Ala Ala Trp Asn Trp Ile Arg Gln Ser Pro Ser Arg Gly Leu Glu
 35                40                45

Trp Leu Gly Arg Thr Tyr Tyr Arg Ser Lys Trp Tyr Asn Asp Tyr Ala
 50                55                60

Val Ser Val Lys Ser Arg Ile Thr Ile Asn Pro Asp Thr Ser Lys Asn
 65                70                75

Gln Phe Ser Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Val
 85                90                95

Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Leu Tyr Asp Phe Trp Ser Gly Tyr Pro Tyr
 100               105               110

Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser
 115               120               125
    
```

10 <210> 35

<211> 383

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

15 <220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético

<400> 35

```

caggtacagc tgcagcagtc aggtccagga ctggtgaagc cctcgagac cctctcactc      60
acctgtgcca tctccgggga cagtgtctct agcaacagtg ctgcttgga ctggatcagg      120
cagtcoccat cgagaggcct tgagtggctg ggaaggacat actacaggtc caagtggat      180
aatgattatg cagtatctgt gaaaagtcga ataaccatca acccagacac atccaagaac      240
cagttctccc tgcagctgaa ctctgtgact cccgaggaca cggctgtgta ttactgtgca      300
agagattact atggttcggg gagtttctac tactactacg gtatggacgt ctggggccaa      360
gggaccaogt tcacogtctc ctc                                             383
    
```

20

ES 2 647 466 T3

<210> 36
 <211> 127
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

<400> 36

10

```

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Ile Ser Gly Asp Ser Val Ser Ser Asn
 20                25                30

Ser Ala Ala Trp Asn Trp Ile Arg Gln Ser Pro Ser Arg Gly Leu Glu
 35                40                45

Trp Leu Gly Arg Thr Tyr Tyr Arg Ser Lys Trp Tyr Asn Asp Tyr Ala
 50                55                60

Val Ser Val Lys Ser Arg Ile Thr Ile Asn Pro Asp Thr Ser Lys Asn
 65                70                75

Gln Phe Ser Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Val
 85                90                95

Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Tyr Tyr Gly Ser Gly Ser Phe Tyr Tyr Tyr
 100               105               110

Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser
 115                120                125
    
```

<210> 37
 <211> 321
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

15

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético

20

<400> 37

```

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc      60
atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc agctatttaa attggtatca gcagaaacca      120
gggaaagccc ctaaggtcct gatctatgct gcatccaatt tgcaaagtgg ggtoccatca      180
aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag totgcaacct      240
gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta cccctcggac gttcggccaa      300
gggaccaagg tggaaatcaa a                                           321
    
```

ES 2 647 466 T3

<210> 38
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

<400> 38

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 Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
           20           25           30

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

Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Gln 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 Ser Thr Pro Arg
           85           90           95

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

<210> 39
 <211> 371
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

15

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético

20

<400> 39

```

caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc ctcgggagac cctgtccctc      60
acctgcactg tctctggtgg ctccatcagt agttactact ggagctggat ccggcagccc      120
gcoggggaagg gactggagtg gattgggcat atctatacca gtgggagcac caactacaac      180
ccctccctca agagtcgagt caccatgtca gtagacacgt ccaagaacca gttctccctg      240
aagctgagct ctgtgaccgc cgcggacacg gccgtgtatt actgtgagag agaagcgatt      300
tttgagtggt gccctacta ctactacggt atggacgtct gggccaagg gaccacggtc      360
accgtctcct c                                                                371
    
```

ES 2 647 466 T3

<210> 40
 <211> 123
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

<400> 40

10

```

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Tyr
          20           25           30

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

Gly His Ile Tyr Thr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50           55           60

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

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

Arg Glu Ala Ile Phe Gly Val Gly Pro Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp
          100          105          110

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

<210> 41
 <211> 377
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

15

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético

20

<400> 41

cagggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60
 tcctgcaagg cttctggata caccttcacc ggctactata tgcactgggt ggcacaggcc 120
 cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcaacccta atattggtgg cacaaactgt 180
 gcacagaagt ttcagggcag ggtcacatg accagggaca cgtocatcag cacagcctac 240
 atggagctga gcaggctgag atctgacgac acggccgtgt attactgtgc gagaggggga 300
 cggtatagca gcagctggtc ctactactac tacggtatgg acgtctgggg ccaagggacc 360
 acggtcaccg tctctc 377

5 <210> 42
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético
 <400> 42

Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ala
1				5					10					15	
Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Gly	Tyr
			20					25					30		
Tyr	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met
		35					40					45			
Gly	Trp	Ile	Asn	Pro	Asn	Ile	Gly	Gly	Thr	Asn	Cys	Ala	Gln	Lys	Phe
	50					55					60				
Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Met	Thr	Arg	Asp	Thr	Ser	Ile	Ser	Thr	Ala	Tyr
65					70					75					80
Met	Glu	Leu	Ser	Arg	Leu	Arg	Ser	Asp	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
				85					90					95	
Ala	Arg	Gly	Gly	Arg	Tyr	Ser	Ser	Ser	Trp	Ser	Tyr	Tyr	Tyr	Tyr	Gly
			100					105						110	
Met	Asp	Val	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser			
		115					120					125			

15 <210> 43
 <211> 336
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético

<400> 43

```

gatattotga tgaccagac tccactctct ctgtccgtca ccctggaca gccggcctcc      60
atctcctgca agtctagtca gagcctcctg cttagtgatg gagggaccta tttgtattgg    120
tacctgcaga agccaggcca gcctccacag ctctgatct atgaagtttc caaccggttc     180
tctggagtgc cagataggtt cagtggcagc gggtcaggga cagatttcac actgaaaatc    240
agccgggtgg aggctgagga tgttggggtt tattactgca tgcaaagtat gcagcttccg    300

atcaccttcg gccaaaggac acgactggaa attaaa                                336
    
```

5

<210> 44
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

15

<400> 44

```

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

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

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

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

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

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

Met Gln Leu Pro Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
          100          105          110
    
```

20

<210> 45
 <211> 380
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

25

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético

<400> 45

```

caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcggagac cctgtccctc      60
acctgcactg tctctggtgg ctccgtcagc agtgggtggtt actactggag ctggatccgg      120
cagccccagc ggaagggact ggagtggatt gggatatctt attacagtgg gagcaccaac      180
tacaaccctt ccctcaagag tcgagtcacc atatcagtag acacgtccaa gaaccagttc      240
tcctgaagc tgagctctgt gaccgctgcg gacacggccg tgtattactg tgcgagaggg      300
ggggacagta actacgagga ttactactac tactacggta tggacgtctg gggccaaggg      360
    
```

5 accacqatca ccctctcctc 380

<210> 46

<211> 126

<212> PRT

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

15 <400> 46

```

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

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

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

Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser
          50           55           60

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

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

Cys Ala Arg Gly Gly Asp Ser Asn Tyr Glu Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr
          100          105          110

Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser
          115          120          125
    
```

<210> 47

<211> 321

<212> ADN

20

ES 2 647 466 T3

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético

5

<400> 47

```

gacatccaga tgaccocagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc      60
atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc atctatttac attggtatca gcagaaacca      120
gggaaagccc ctaagctctt gatctctgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccgtca      180
aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagaag totgcaacct      240

gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacactt ccccgatcac cttcggccaa      300
gggacacgac tggagattaa a                                             321
    
```

10

<210> 48

<211> 107

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

<400> 48

```

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 Ser Ile Ser Ile Tyr
             20             25             30

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

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

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

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

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

20

<210> 49

<211> 380

<212> ADN

25

<213> Secuencia artificial

ES 2 647 466 T3

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético

<400> 49

5

```

caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc ctcggagac cctgtccctc      60
acctgcactg tctctggtgg ctccatcagt agttactact ggagctggat cgggcagccc      120
ccaggaagg gactggagtg gattgggtat atctattaca gtgggagcac caactacaac      180
ccctccctca agagtcgagt caccatatca gtagacacgt ccaagcacca gttctccctg      240
aagctgagct ctgtgaccgc tgcggacacg gccgtgtatt actgtgagag agattcgagt      300

tactatgata gtagtggtta ttacttatac tactacgcta tggacgtctg gggccaaggg      360
accacgggtca cagtctcctc      380
    
```

<210> 50

<211> 126

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

10

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

15

<400> 50

```

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Tyr
 20           25           30

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

Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
 50           55           60

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

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

Arg Asp Ser Ser Tyr Tyr Asp Ser Ser Gly Tyr Tyr Leu Tyr Tyr Tyr
 100          105          110

Ala Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser
 115          120          125
    
```

ES 2 647 466 T3

<210> 51
 <211> 339
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético

<400> 51

10

```

gacatcgtga tgaccagtc tccagactcc ctggctgtgt ctctgggcca gagggccacc      60
atcaactgca agtccagcca gagtgtttta tacagctcca acaataagaa ctacttagct      120
tggtaccagc agaaaccagg acagcctcct aagctgctca tttcctgggc atctaccgg      180
gaatccgggg tccctgaccg attcagtggc agcgggtctg ggacagattt cactctcacc      240
atcagcagcc tgcaggctga agatgtggca gtttattact gtcagcaata ttatactact      300
cctctcactt tcggcctcgg gaccaaagtg gatatcaaa      339
    
```

<210> 52
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

20

<400> 52

```

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

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser
          20           25           30

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

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

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

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

Tyr Tyr Thr Thr Pro Leu Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile
          100          105          110

Lys
    
```

ES 2 647 466 T3

<210> 53
<211> 357
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

5

<220>
<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético

10

<400> 53

```
gagggtgcaac tgggtggagtc tggggggagge ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc      60
tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt atctatagca tgaactgggt ccgccaggct      120

ccaggggaagg ggctggagtg ggtttcatac attagtagta gtagtagtac catatactac      180
gcagactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca atgccaagaa ctcaactgtat      240
ctgcaaatga acagcctgag agacgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagatagg      300
ggtgacttcg atgcttttga tatctggggc caagggacaa tggtcaccgt ctcttca      357
```

<210> 54
<211> 119
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

15

<220>
<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

20

<400> 54

ES 2 647 466 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 Phe Ser Ile Tyr
 20 25 30

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

Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Ser Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

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

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

Ala Arg Asp Arg Gly Asp Phe Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Met Val Thr Val Ser Ser
 115

5 <210> 55
 <211> 321
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético

<400> 55

gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcaacttgcc aggcgagtcg ggacattacc aactatattga attggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagctcct gatctacgat gcatccaatt tggaacagg ggtcccatca 180

aggttcagtg gaagtggatc tgggacagat tttactttca ccatcagcag cctgcagcct 240

gaagatattg caacatataa ctgtcaacag tgtgaaaatt tcccgatcac cttcggccaa 300

gggacacgac tggagattaa a 321

15 <210> 56
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

<400> 56

ES 2 647 466 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	Gln	Ala	Ser	Gln	Asp	Ile	Thr	Asn	Tyr
			20					25					30		
Leu	Asn	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile
		35					40					45			
Tyr	Asp	Ala	Ser	Asn	Leu	Glu	Thr	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly
	50					55					60				
Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Phe	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro
65					70					75					80
Glu	Asp	Ile	Ala	Thr	Tyr	Asn	Cys	Gln	Gln	Cys	Glu	Asn	Phe	Pro	Ile
				85					90					95	
Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Arg	Leu	Glu	Ile	Lys					
			100					105							

5	<210> 57	
	<211> 336	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
10	<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético	
	<400> 57	
	gatattgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgta cccctggaga gccggcctcc	60
	atctcctgca ggtctagtca gaggctcctg tatagtaatg gatacaagta tttggattgg	120
	tacctgcaga agccagggca gtctccacag ctctgatct atttgggttc taatcgggcc	180
	tccgggggtcc ctgacagggt cagtggcagt ggatcaggca cagattttac actgaaaatc	240
	agcagagtgg aggctgagga tgttgggggt tattattgca tgcaggctct acaaactccg	300
	atcaccttcg gccaaaggac acgactggag attaaa	336
15	<210> 58	
	<211> 112	
	<212> PRT	
	<213> Secuencia artificial	
20	<220>	
	<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético	
	<400> 58	

ES 2 647 466 T3

```

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

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

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

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

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

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

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

```

5 <210> 59
 <211> 374
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético
 <400> 59

```

caggTgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcggagac cctgtccctc      60
acctgcactg tctctgggtg ctccgtcagc agtgggtggtt actactggaa ctggatccgg      120
cagccccag ggaagggact ggagtggatt gggatatatca attacagtgg gagcaccaac      180
tacaaccct ccctcaagag tcgagtcacc atatcagtag acacgtccaa gaaccagttc      240
tcctgaagc tgagctctgt gaccgctgcg gacacggccg tgtattactg tgcgagagat      300
cgagaactgg aactttacta ctactactac ggtatggacg tctggggcca agggaccacg      360
gtcaccgtct cctc                                     374

```

15 <210> 60
 <211> 124
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético
 <400> 60

ES 2 647 466 T3

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

5 <210> 61
 <211> 374
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético
 <400> 61

caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttctgagac cctgtccctc 60
 acctgcactg tctctgggtg ctccgtcagc agtgggtggtt actactggaa ctggatccgg 120
 cagcccccag ggaagggact ggagtggatt gggatatatca attacagtgg gagcaccaac 180
 tacaaccocct ccoctcaagag tcgagtcacc atatcagtag acacgtccaa gaaccagtto 240
 tccctgaagc tgagctctgt gaccgctgcg gacacggccg tgtattactg tgcgagagat 300
 cgagaactgg aactttacta ctactactac ggtatggacg tctggggcca agggaccacg 360
 gtcaccgtct cctc 374

15 <210> 62
 <211> 124
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

ES 2 647 466 T3

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

<400> 62

5

```

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

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

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

Trp Ile Gly Tyr Ile Asn Tyr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser
          50           55           60

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

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

Cys Ala Arg Asp Arg Glu Leu Glu Leu Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met
          100          105          110

Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser
          115          120
    
```

<210> 63

<211> 336

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

10

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético

<400> 63

15

```

gatattgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgtca cccctggaga gccggcctcc      60
atctcctgca ggtctagtca ggcctcctg tatagtaatg gatacaagta tttggattgg      120
tacctgcaga agccagggca gtctccacag ctcatgatct atttgggttc taatcgggcc      180
tccgggggtcc ctgacaggtt cagtggcagt ggatcaggca cagattttac actgaaaatc      240
agcagagtgg aggctgagga tgttgggggtt tattattgca tgcaggctct acaaactccg      300
atcaocttgc gccaaaggac acgactggag attaaa      336
    
```

20

<210> 64

<211> 112

<212> PRT

ES 2 647 466 T3

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

5

<400> 64

```

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

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

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

Pro Gln Leu Met Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
          50           55           60

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

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

Leu Gln Thr Pro Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
          100          105          110
    
```

10

<210> 65

<211> 363

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

15

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético

<400> 65

```

caggtgcagc tggtaggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc      60
tctctgtgcag cgtctggatt caccttcagt agctatggca tgcactgggt ccgccagget      120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatggtatg atggaagtaa taaatactat      180
gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tocagagaca attccaagaa cacgctgtat      240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagcagct      300
cgccttgact actactacgg tatggacgtc tggggccaag ggaccacggt cacogtctcc      360
tca                                                                                   363
    
```

20

<210> 66

<211> 121

<212> PRT

25

<213> Secuencia artificial

ES 2 647 466 T3

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

<400> 66

5

```

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Ala Ala Arg Leu Asp Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly
          100          105          110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
          115          120
    
```

<210> 67

<211> 321

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

10

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético

<400> 67

15

```

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtctcc      60
atcacttgcc gggcaagtca gagcattaac agctatttaa attggtttca gcagaagcca      120
gggaaagccc ctcagctcct gatctttggt gcatccggtt tgcaaagtgg ggtcccatca      180
aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactetca ccatcaacag tetgcaacct      240
gaagatthtg caacttacta ctgtcaacag agttacagtt ccccgctcac cttcggccaa      300
gggacacgac tggagattaa a                                             321
    
```

20

<210> 68

<211> 107

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

ES 2 647 466 T3

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

<400> 68

5

```

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

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

Leu Asn Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Gln Leu Leu Ile
           35           40           45

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

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

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

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

<210> 69

<211> 351

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

10

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético

<400> 69

15

```

caggtgcagc tacagcagtg gggcgcagga ctggtgaagc ctcggagac cctgtccctc      60
acctgcgctg tctatggtgg gtccttcagt ggttactact ggagctggat ccgccagccc      120
ccaggggaagg ggctggagtg gattggggaa atcaatcata gtggaagcac caactacaac      180
ccgtccctca agagtcgagt caccatatca gtagaaacgt ccaagaacca gttctccctg      240
aagctgagct ctgtgaccgc cgcggacacg gctgtgtatt actgtgagag agataagtgg      300
acctgggtact tcgatctctg gggccgtggc accctgggtca ctgtctctc a              351
    
```

20

<210> 70

<211> 117

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

25

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

ES 2 647 466 T3

<400> 70

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

5 <210> 71
 <211> 339
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético

<400> 71

gacatcgaga	tgaccagtc	tccagactcc	ctggctgtgt	ctctgggcca	gagggccacc	60
atcaactgca	ggtccagcca	gagtgtttta	tacagctcca	gcaataggaa	ctacttagct	120
tggtaccagc	agaaccagg	acagcctoct	aagctgctca	tttactgggc	ttctaccgg	180
gaatccgggg	tcctgaccg	attcagtggc	agcgggtctg	ggacagattt	cactctcacc	240
atcagcagcc	tgaggctga	agatgtggca	gtttattact	gtcagcaata	ttatagtact	300
cctcggacgt	tcggccaagg	gaccaaggtg	gaaatcaaa			339

15 <210> 72
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>

ES 2 647 466 T3

<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

<400> 72

```

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

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser
 20           25           30

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

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

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

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

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

5 Lys

<210> 73

<211> 374

<212> ADN

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético

15 <400> 73

```

cagggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcacagac cctgtcctc      60
acctgcaactg tctctggtgg ctccatcagc agtggtggtt actactggag ctggatccgc      120
cagcaccagcag ggaagggcct ggagtgatg ggaacatct attacagtgg gagcacctac      180
tacaaccgct cctcaagag tcgagttacc atatcagtag acacgtctga gaaccagttc      240
tcctgaagc tgaactctgt gactgccgcg gacacggccg tatattactg tgcgagaggg      300
ggaactggaa ccaattacta ctactactac ggtatggacg tctggggcca agggaccagc      360
gtcaccgtct cctc                                     374
    
```

<210> 74

20

<211> 124

<212> PRT

ES 2 647 466 T3

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

5

<400> 74

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

10 <210> 75
 <211> 324
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético
 <400> 75

gaaattgtgt	tgacgcagtc	tccaggcacc	ctgtctttgt	ctccagggga	aagagccacc	60
ctctcctgca	gggccagtca	gagtgtagc	agcagctact	tagcctggta	ccagcagaaa	120
cctggccagg	ctcccaggct	cctcatctat	ggtgcatcca	gctggggcac	tggcatccca	180
aacaggttca	gtggcagtgg	gtctgggaca	gacttcactc	tcaccatcag	cagactggag	240
cctgaagatt	ttgcagtgta	ttactgtcag	cagtatggta	gctcaccgct	cactttcggc	300
ggagggacca	aggtggagat	caaa				324

20 <210> 76

ES 2 647 466 T3

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

5 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

<400> 76

```

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
                20           25           30

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

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Trp Ala Thr Gly Ile Pro Asn Arg Phe Ser
50           55           60

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

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

Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
                100           105
  
```

10

<210> 77
 <211> 377
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

15

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético

20 <400> 77

```

cagggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcacagac cctgtccctc      60
acctgcactg tctctggtgt ctccatcagc agtgggtggtt actactggag ctggatccgc      120
cagcaccagc ggatgggect ggagtggatt gggtagatct attacagtgg gagcacctac      180
tacaaccctg ccctcaagag tgcagtcacc atatcagaag acacgtctaa gaaccagttc      240
tcctgaagc tgagctctgt gactgcccgc gacacggccg tgtattactg tgcgagagat      300
tccgagtccg agtatagcag ctcgtcgaac tacgggtatgg acgtctgggg ccaagggacc      360
acggtcaccg tctcctc                                     377
  
```

25 <210> 78
 <211> 125
 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

5

<400> 78

```

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

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

Gly Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln His Pro Gly Met Gly Leu Glu
          35           40           45

Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50           55           60

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

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

Cys Ala Arg Asp Ser Glu Ser Glu Tyr Ser Ser Ser Ser Asn Tyr Gly
          100          105          110

Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser
          115          120          125
    
```

10

<210> 79

<211> 377

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

15

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético

<400> 79

```

caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcacagac cctgtccctc      60
acctgcactg tctctggtgt ctccatcagc agtggtggtt actactggag ctggatccgc      120
cagcacccag ggatgggcct ggagtggatt gggatcatct attacagtgg gagcacctac      180
tacaaccogt ccctcaagag togagtcacc atatcagaag acacgtctaa gaaccagttc      240
tcctgaagc tgagctctgt gactgccgcg gacacggccg tgtattactg tgcgagagat      300
tccgagtccg agtatagcag ctcgtcgaac tacgggatgg acgtctgggg ccaagggacc      360
acggtcaccg tctcctc                                     377
    
```

20

<210> 80

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

5 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

<400> 80

Gln	Val	Gln	Leu	Gln	Glu	Ser	Gly	Pro	Gly	Leu	Val	Lys	Pro	Ser	Gln
1				5					10					15	
Thr	Leu	Ser	Leu	Thr	Cys	Thr	Val	Ser	Gly	Val	Ser	Ile	Ser	Ser	Gly
			20					25					30		
Gly	Tyr	Tyr	Trp	Ser	Trp	Ile	Arg	Gln	His	Pro	Gly	Met	Gly	Leu	Glu
		35					40					45			
Trp	Ile	Gly	Tyr	Ile	Tyr	Tyr	Ser	Gly	Ser	Thr	Tyr	Tyr	Asn	Pro	Ser
	50					55					60				
Leu	Lys	Ser	Arg	Val	Thr	Ile	Ser	Glu	Asp	Thr	Ser	Lys	Asn	Gln	Phe
65					70					75					80
Ser	Leu	Lys	Leu	Ser	Ser	Val	Thr	Ala	Ala	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr
				85					90					95	
Cys	Ala	Arg	Asp	Ser	Glu	Ser	Glu	Tyr	Ser	Ser	Ser	Ser	Asn	Tyr	Gly
			100					105					110		
	Met	Asp	Val	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser		
			115					120					125		

10

<210> 81
 <211> 321
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

15

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético

20

<400> 81

gacatccaga	tgacccagtc	tccatcctcc	ctgtctgcat	ctgtaggaga	cagaatcacc	60
atcacttgcc	gggcaagtca	gaccattagc	agctatttaa	attggtatca	gcagaaacca	120
gggaaagccc	ctaagctcct	gatctatgct	gcatccagtt	tgcaaggtgg	ggtcccatca	180
aggttcagtg	gcagtgatc	tgggacagat	ttaccctca	ccgtcagcag	tctgcaacct	240
gaagattttg	caacttacta	ctgtcaacag	agttacagta	acccgctcac	tttcggcgga	300
gggaccaagg	tggagatcaa	a				321

ES 2 647 466 T3

<210> 82
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

<400> 82

10

```

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

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

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

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

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

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

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

<210> 83
 <211> 371
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

15

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético

20

<400> 83

```

gaggtgcagc tgggtgcagtc tggagcagag gtgaaaaagc ccggggagtc tctgaagatc      60
tcttgtaagg gttctggata cagttttacc agctactgga tcggctgggt gcgccagatg      120
cccgggaaag gcctggagtg gatggggatc atctatcctg gtgactctga taccagatac      180
agcccgtcct tccaaggcca ggtcaccatg tcagccgaca agtccatcag taccgcctac      240
ctgcagctga gcagccatga aggcctcgga caccgccatg tattactgtg cgagacagat      300
ggctggaaac tacgtacatc acgggtgatc gagacgtcct gggccaagg gaccacggtc      360
accgtctcct c                                                    371
    
```

25

<210> 84

ES 2 647 466 T3

<211> 123
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético
 <400> 84

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

10

<210> 85
 <211> 324
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 20 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético
 <400> 85

gaaattgtgt	tgacgcagtc	tccaggcacc	ctgtctttgt	ctccagggga	aagagccacc	60
ctctcctgca	gggccagtca	gagtgttata	agcatctact	tagectggta	ccagcagaaa	120
cctggccagg	ctcccaggct	cctcatctat	ggtgcatcca	gcagggccac	tggcatccca	180
gacaggttca	gtggcagtgg	gtctgggaca	gacttcactc	tcaccatcag	cagactggag	240
cctgaagatt	ttgcagtgta	ttactgtcag	cagtatggta	gctcacogtg	cagttttggc	300
caggggacca	aactggagat	caaa				324

ES 2 647 466 T3

<210> 86
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

<400> 86

10

```

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ile Ser Ile
          20           25           30

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

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
          50           55           60

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

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

Cys Ser Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
          100          105
    
```

<210> 87
 <211> 366
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

15

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético

20

<400> 87

```

caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcacagac cctgtccctc      60
acctgcactg tctctggtgg ctccatcagc agtggtgatt actactggag ctggatccgc      120
cagcaccagc ggaagggcct ggagtgatt ggtacatct attacagtgg gagcacctac      180
tacaaccogt ccctcaggag tcgagttacc atatcagtag acacgtctaa gaaccagttc      240
tcctgaagc tgagctctgt gactgcccgc gacacggccg tgtattactg tgcgagagcg      300
gattacgatt tttggagtgg ttatcttgac tactggggcc agggaaccct ggtcaccgtc      360
tctca                                           366
    
```

25 <210> 88
 <211> 122

ES 2 647 466 T3

<212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

<400> 88

```

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

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

Asp Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln His Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35          40          45

Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50          55          60

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

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

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

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115          120
    
```

10 <210> 89
 <211> 322
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético

20 <400> 89

```

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc      60
atcacttgcc gggcaagtca gggcattaga aatgatttag gctggtatca gcagatacct      120
gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca      180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca caatcaacag cctgcagcct      240
gaagattttg caacttatta ctgtctacag cataatgggtt acccgtggac gttcggccaa      300
gggaccaagg tggaatcaa ac                                          322
    
```

<210> 90

ES 2 647 466 T3

<211> 107
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

<400> 90

```

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 Gly Ile Arg Asn Asp
20 25 30

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

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

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln His Asn Gly Tyr Pro Trp
85 90 95

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

10
 15 <210> 91
 <211> 366
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético

20 <400> 91

```

caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcacagac cctgtccctc 60
acctgcactg tctctggtgg ctccatcagc agtggtgatt actactggag ctggatccgc 120
cagcaccag ggaagggcct ggagtggatt ggatacatct attacagtgg gagcacctac 180
tacaaccgt ccctcaagag tgcagttacc atatcagtag acacgtctaa gaaccagttc 240
tcctgaagc tgagctctgt gactgccgcg gacacggccg tgtattactg tgcgagagcg 300
gattacgatt tttggagtgg ttattttgac tactggggcc agggaaccct ggtcaccgtc 360
tcctca 366
    
```

25 <210> 92
 <211> 122
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

ES 2 647 466 T3

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

5 <400> 92

```

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

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

Asp Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln His Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35           40           45

Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50           55           60

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

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

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

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115           120
    
```

<210> 93

10 <211> 322

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético

<400> 93

```

gacttcaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc      60
atcacttgcc gggcaagtca ggacattoga aatgatttag gctggtatcg gcagaaacct      120
gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca      180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca caatcagcag cctgcagcct      240
gaagattht caacttatta ctgtctacag cataatagtt acccgtggac gttcggccaa      300
gggaccaagg tggaaatcaa ac                                             322
    
```

20

<210> 94

<211> 107

<212> PRT

ES 2 647 466 T3

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

5

<400> 94

Asp Phe 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 Ile Arg Asn Asp
20 25 30

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

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

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

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

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

10

<210> 95

<211> 366

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

15

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético

<400> 95

caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcacagac cctgtccctc 60

acctgcactg tctctggtgg ctccatcagc agtggtgatt actactggag ctggatccgc 120

cagcaccag ggaagggcct ggagtggatt ggatacatct attacagtgg gagcacctac 180

tacaaccogt ccctcaagag tcgagttacc atatcaatag acacgtctaa gaaccagttc 240

tcctgaagc tgagctctgt gactgccgcg gacacggccg tgtattactg tgcgagagcg 300

gattacgatt tttggaatgg ttatthttgac tactgggggcc agggaaccct ggtcacogtc 360

20

tcctca 366

<210> 96

<211> 122

<212> PRT

25

<213> Secuencia artificial

ES 2 647 466 T3

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

<400> 96

5

```

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

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

Asp Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln His Pro Gly Lys Gly Leu Glu
          35          40          45

Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
          50          55          60

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

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

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

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
          115          120
    
```

<210> 97

<211> 321

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

10

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético

<400> 97

15

```

gacatccaga tgaccocagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc      60
atcacttgcc gggcaagtca ggacattaga aatgatttag gctggtatcg gcagaaacct      120
gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca      180
aggttcagcg gcagtggtatc tgggacagaa ttactctca caatcagcag cctgcagcct      240
gaagattttg caacttatta ctgtctacag cataatagtt acccgtggac gttcggccaa      300
gggaccaagg tggaaatcaa a                                          321
    
```

20

<210> 98

<211> 107

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

ES 2 647 466 T3

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

<400> 98

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 Ile Arg Asn Asp
20 25 30

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

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

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

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

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

```

<210> 99

<211> 366

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

10

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético

<400> 99

15

```

cagggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc ctacacagac cctgtccctc 60
acctgcactg tctctggtgg ctccatcagc agtggtgatt actactggag ctggatccgc 120
cagcaccag ggaagggcct ggagtggatt gggtagatct attacagtgg gagcacctac 180
tacaaccctg cctcaagag togacttacc atatcagtag acacgtctaa gaaccagttc 240
tcctgaagc tgagctctgt gactgccgcg gacacggccg tgtattactg tgcgagagca 300
gattacgatt tttggagtgg ttactttgac tactggggcc agggaaccct ggtcacctgc 360
tctca 366

```

20

<210> 100

<211> 122

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

25

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

ES 2 647 466 T3

<400> 100

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

5 <210> 101
 <211> 321
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético

<400> 101

gacatccaga	tgaccagtc	tccatcctcc	ctgtctgcat	ctgtaggaga	cagagtcacc	60
atcaattgcc	gggcaagtca	gggcattaga	aatgatttag	gctggtatca	gcagaaacca	120
gggaaagccc	ctaagcgcct	gatctatgct	gcatccagtt	tgcaaagtgg	ggtcccatca	180
aggttcagcg	gcagtggatc	tgggacagaa	ttcactctca	caatcagcag	cctgcagcct	240
gaagattttg	caacttatta	ctgtctacag	cataataatt	accctggac	gttcggccaa	300
gggaccaagg	tggaaatcaa	a				321

15 <210> 102
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

ES 2 647 466 T3

<400> 102

```

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 Gly Ile Arg Asn Asp
           20           25           30

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

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

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

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

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

5 <210> 103
 <211> 366
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético

<400> 103

```

caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcacagac cctgtccctc      60
acctgcactg tctctggtgg ctccatcagt agtggtgatt actactggag ctggatccgc      120
cagcaccag ggaagggcct ggagtggatt gggtagatct attacagtgg gagcacctac      180
tacaaccctg cctcaagag tgcagttacc atatcagtag acacgtctaa gaaccagttc      240
tcctgaagt tgagctctgt gactgccgcg gacacggccg tgtattactg tgcgagagcc      300
gattacgatt tttggagtgg ttatTTTTgac tactggggcc agggaaccct ggtcacccgc      360
tcctca                                           366
    
```

15 <210> 104
 <211> 122
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

25 <400> 104

ES 2 647 466 T3

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

5 <210> 105
 <211> 321
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético
 <400> 105

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgcc gggcaagtca gggcattaga aatgatttag gctggtatca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
 aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca caatcagcag cctgcagcct 240
 gaagattttg caacttatta ctgtctacag cataataatt acccgtggac gttcggccaa 300
 gggaccaagg tggaaatcaa a 321

15 <210> 106
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 20 <220>

ES 2 647 466 T3

<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

<400> 106

```

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 Gly Ile Arg Asn Asp
           20           25           30

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

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

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

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

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

5

<210> 107

<211> 351

<212> ADN

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético

15 <400> 107

```

cagggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcacagac cctgtccctc      60
acctgcactg tctctggtgg ctccatcagc agtggtggtt actactggag ctggatccgc      120
cagcaccagc ggaagggcct ggagtggatt gggtagatct attacagtgg gagcacctac      180
tacaaccctg ccctcaagag tcgagttacc atatcagtag acacgtctaa gaaccagttc      240
tcctgaagc tgagctctgt gactgccgcg gacacggccg tgtattactg tgcgagagag      300
gacgacggta tggacgtctg gggccaaggg accacgggtca ccgtctcctc a              351
    
```

20

<210> 108

<211> 117

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

25 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

<400> 108

ES 2 647 466 T3

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

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

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

Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
 50 55 60

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

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

Cys Ala Arg Glu Asp Asp Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
 115

5 <210> 109
 <211> 336
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético

<400> 109

gatattgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgta cccctggaga gcgggcctcc 60

atttctgca ggtctagtca gaggctcctg catagtaatg gatacaacta tttggaatgg 120

tacctgcaga agccagggca gtccccacag ttcatgattt atttggggtc taatcggggc 180

tccgggggtcc ctgacaggtt cagtggcagt ggatcaggca cagattttac actgaaaatc 240

agcagagtgg aggctgagga tgttgggggtt tattactgca tgcaagctct acaaactccg 300

atcaccttcg gccaaaggac acgactggag attaaa 336

15 <210> 110
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

ES 2 647 466 T3

<400> 110

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

5 <210> 111
 <211> 366
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético

<400> 111

caggtgcagc	tgcaggagtc	gggccagga	ctggtgaagc	cttcacagac	cctgtccctc	60
acctgcactg	tctctggtgg	ctccatcagc	agtggtgatt	actactggag	ctggatccgc	120
cagtaccag	ggaaggcct	ggagtggatt	gggtacatct	attacagtgg	gagcacctac	180
tacaaccgt	ccctcaagag	tcgagttacc	atatcagtag	acacgtctaa	gaaccagttc	240
tcctgaagc	tgaggtctgt	gactgccgcg	gacacggccg	tgtattactg	tgcgagagcg	300
gattacgatt	tttgagtg	ttattttgac	tactggggcc	aggaaccct	ggtcaccgtc	360
tcctca						366

15 <210> 112
 <211> 122
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

25 <400> 112

ES 2 647 466 T3

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

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

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

Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
 50 55 60

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

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

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

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

5 <210> 113
 <211> 322
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético
 <400> 113

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgcc gggcaagtca gggcattaga aatgatttag gctggtatca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaagcgct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
 aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca caatcagcag cctgcagcct 240
 gaagattttg caacttatta ctgtctacag cataatactt acccgtggac gttcggccaa 300
 gggaccaagg tggaaatcaa ac 322

15 <210> 114
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

ES 2 647 466 T3

<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 Gln Gly Ile Arg Asn Asp
          20           25           30

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

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

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

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

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

5 <210> 115
 <211> 372
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético

<400> 115

```

caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcggagac cctgtccctc      60
acctgcactg tctctgggtg ctccgtcagc agtggtggtt actactggag ctggatccgg      120
cagcccccag ggaaggact ggagtggatt gggatatctt attacagtgg gagcaccaac      180
tacaaccctt ccctcaagag togagtcacc atatcagtag acacgtccaa gaaccagttc      240
tcctgaagc tgagctctgt gaccgctgcg gacacggccg tgtattactg tgcgagagat      300
ggggacgtgg atacagctat ggtcgatgct tttgatctct ggggccaagg gacaatggtc      360
accgtctcct ca                               372
    
```

15 <210> 116
 <211> 124
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

ES 2 647 466 T3

<400> 116

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

5 <210> 117
 <211> 324
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético
 <400> 117

gaaattgtat tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcctgca gggccagtca gagtttaagc ggcaactact tagcctggta ccagcagaag 120
cctggccagg ctcccaggct catcatctgt ggtgcatcca gcagggccac tggcatccca 180
gacaggttca gtggcagtgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcac aagactggag 240
cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagtatgata ggtcaccgct cactttcggc 300
ggagggacca aggtggagat caaa 324

15 <210> 118
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

ES 2 647 466 T3

<400> 118

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

5 <210> 119
 <211> 366
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético

<400> 119

caggtgcagc	tgcaggagtc	gggccagga	ctggtgaagc	cttcacagac	cctgtccctc	60
acctgcactg	tctctggtgg	ctccatcagc	agtggtgatt	actactggag	ctggatccgc	120
cagcaccag	ggaagggcct	ggagtggatt	gggtacatct	attacagtgg	gagcacctac	180
tacaaccogt	ccctcaagag	tcgagttacc	atatcagtag	acacgtctaa	gaaccagttc	240
tcctgaagc	tgagctctgt	gactgccgcg	gacacggccg	tgtattactg	tgcgagagga	300
gattacgatt	tttggagtgg	agagtttgac	tactggggcc	aggaaccct	ggtcaccgtc	360
tcctca						366

15 <210> 120
 <211> 122
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

25 <400> 120

ES 2 647 466 T3

<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

<400> 122

```

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

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

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

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

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

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

Cys Ala Arg Asp Gln Gly Gln Asp Gly Tyr Ser Tyr Gly Tyr Gly Tyr
          100          105          110

Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser
          115          120          125
    
```

5

<210> 123

<211> 321

<212> ADN

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético

15 <400> 123

```

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc      60
atcacttgcc aggcgagtca ggacattagc aattatttaa attggtatca gcagaaacca      120
gggaaagccc ctaaactcct gatctacgtt gcatccaatt tggaacagc ggtcccatca      180
aggttcagtg gaagtggatc tgggacagat tttactttca ccatcagcag cctgcagcct      240
gaagatattg caacatatta ctgtcaacag tgtgataatc tcctctcac ttteggcgga      300
gggaccaagg tggagatcaa a                                           321
    
```

20

<210> 124

<211> 107

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

ES 2 647 466 T3

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

<400> 124

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

<210> 125

<211> 365

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

10

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético

<400> 125

15

```

cagggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcacagac cctgtccctc      60
acctgcactg tctctggtgg ctccatcagc agtggtgatt actactggag ctggatccgc      120
cagcaccagc ggaagggcct ggagtggatt ggatacatct attacagtgg gagcacctac      180
tacaaccctg ccctcaagag tgcagttacc atatcagtag acacgtctaa gaaccagttc      240
tcctgaagc tgcagctctgt gactgccgcg gacacggccg tgtattactg tgcgagagcg      300
gattacgatt tttggagtgg ttatcttgac tactggggcc agggaaccct ggtcaccgtc      360
tcctc                                           365
    
```

<210> 126

<211> 121

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20

<220>

25

ES 2 647 466 T3

<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

<400> 126

```

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

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

Asp Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln His Pro Gly Lys Gly Leu Glu
          35           40           45

Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
          50           55           60

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

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

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

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
          115          120

```

5

<210> 127

<211> 322

<212> ADN

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético

15 <400> 127

```

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc      60
atcaacttgcc gggcaagtca ggacattaga aatgatttag gctggtatcg gcagaaacot      120
gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgct gcatccogtt tgcaaagtgg ggtcccatca      180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactotca caatcagcag cctgcagcct      240
gaagattttg caacttatta ctgtctacag cataatagtt acccgtggac gttcggccaa      300
gggaccaagg tggaatcaa ac                                     322

```

20

<210> 128

<211> 107

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

ES 2 647 466 T3

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

<400> 128

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 Ile Arg Asn Asp
20 25 30

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

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

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

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

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

```

<210> 129

<211> 366

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

10

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético

<400> 129

15

```

caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcacagac cctgtccctc 60
acctgcactg tctctggtgg ctccatcagc agtggtgatt actactggag ctggatccgc 120
cagcaccagc ggaagggcct ggagtggatt gggatcatct attacagtgg gagcacctac 180
tacaaccgct ccctcaagag tgcagttacc atatcagtag acacgtctaa gaaccagttc 240
tcctgaagc tgagctctgt gactgccgcg gacacggccg tgtattactg tgcgagagcc 300
gattacgatt tttggagtgg ttatcttgac tactggggcc agggaaccct ggtcaccgtc 360
tcctca 366

```

<210> 130

<211> 122

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

25

ES 2 647 466 T3

<400> 130

```

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

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

Asp Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln His Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35          40          45

Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50          55          60

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

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

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

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115          120

```

5 <210> 131
 <211> 322
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético

<400> 131

```

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc      60
atcacttgcc gggcaagtca gggcattaga aatgatttag gctggtatca gcagaaacca      120
gggaaagccc ctaagcgctt gatctatgct gcatccagtt tgcaaaatgg ggtcccatca      180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca caatcagcag cctgcagcct      240
gaagattttg caacttatta ctgtctacag cataatagtt acccgtggac gttcggccaa      300
gggaccaagg tggaaatcaa ac                                             322

```

15 <210> 132
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

ES 2 647 466 T3

<400> 132

```

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 Gly Ile Arg Asn Asp
           20           25           30

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

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

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

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

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

5 <210> 133
 <211> 365
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético

<400> 133

```

caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcacagac cctgtccctc      60
acctgcactg tctctggtgg ctccatcagc agtggtgatt actactggag ctggatccgc      120
cagcaccagc ggaagggcct ggagtggatt gggtagatct attacagtgg gagcacctac      180
tacaaccogt ccctcaagag tcgagttacc atatcagtag acacgtctaa gaaccagttc      240
tcctgaagc tgagctctgt gactgccgag gacacggccg tgtattactg tgcgagagcg      300
gattacgatt tttggagtgg ttattttgac tactggggcc agggaatcct ggtcaccgtc      360
tcctc                                           365
    
```

15 <210> 134
 <211> 121
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

25 <400> 134

ES 2 647 466 T3

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

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

Asp Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln His Pro Gly Lys Gly Leu Glu
 35 40 45

Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
 50 55 60

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

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

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

Gly Gln Gly Ile Leu Val Thr Val Ser
 115 120

5 <210> 135
 <211> 322
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético
 <400> 135

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggcaagtca gggcattaga aatgatttag gctggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagcgct gatttatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca caatcagcag cctgcagcct 240

gaagattttg caacttatta ctgtctacag cataatagtt acccgtggac gttcggccaa 300

gggaccaagg tggaaatcaa ac 322

15 <210> 136
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

ES 2 647 466 T3

<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 Gln Gly Ile Arg Asn Asp
20 25 30

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

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

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

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

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

- 5 <210> 137
- <211> 366
- <212> ADN
- <213> Secuencia artificial

- 10 <220>
- <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético

<400> 137

```

caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcacagac cctgtccctc      60
acctgcactg tctctggtgg ctccatcagt agtgggtgatt actactggag ctggatccgc      120
cagcaccag ggaagggcct ggagtggatt ggttacatct attacagtgg gagcacctac      180
tacaaccogt ccctcaagag tcgagttacc atatcagtag acacgtctaa gaaccagttc      240
tcctgaagt tgagctctgt gactgccgcg gacacggccg tgtattactg tgcgagagcc      300
gattacgatt tttggaatgg ttatattgac tactggggcc agggaaccct ggtcaccgtc      360
tcctca                                          366
    
```

- 15 <210> 138
- <211> 122
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial

- 20 <220>
- <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

25 <400> 138

ES 2 647 466 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 Gly Ile Arg Asn Asp
 20 25 30

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

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

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

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

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

<210> 141
 <211> 366
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético

<400> 141

caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcacagac cctgtccctc 60
 acctgcactg tctctgggtg ctccatcagc agtggtgatt actactggag ctggatccgc 120
 cagcaccag ggaagggcct ggagtggatt ggtacatct attacagtgg gagcacctac 180
 tacaaccctg ccctcaagag tcgagttacc atatcagtag acacgtctaa gaaccagttc 240
 tccttgaagc tgagctctgt gactgccgcg gacacggccg tgtattactg tgcgagagcc 300
 gattacgatt tttggagtgg ttattttgac tactggggcc agggaaccct ggtcacccgc 360
 tcctca 366

<210> 142
 <211> 122
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

<400> 142

ES 2 647 466 T3

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

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

Asp Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln His Pro Gly Lys Gly Leu Glu
 35 40 45

Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
 50 55 60

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

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

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

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

5 <210> 143
 <211> 322
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético
 <400> 143

gacatccagc tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgcc gggcaagtca gggcattaga aatgatttag gctggtatca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaaatgg ggteccatca 180
 aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca caatcagcag cctgcagcct 240
 gaagattttg caacttatta ctgtctacag cataatagtt acccgtggac gttcggccaa 300
 gggaccaagg tggaaatcaa ac 322

15 <210> 144
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético
 <400> 144

ES 2 647 466 T3

Asp Ile Gln Leu 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 Gly Ile Arg Asn Asp
 20 25 30

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

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

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

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

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

5 <210> 145
 <211> 365
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético

<400> 145

cagggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcacagac cctgtccctc 60
 acctgcactg tctctggtgg ctccatcagc agtggtgatt actactggag ctggatccgc 120
 cagtaccagc ggaagggcct ggagtggatt gggtagatct attacagtgg gagcacctac 180
 tacaaccogt ccctcaagag tcgagttacc atatcagtag acacgtctaa gaaccagttc 240
 tcctgaagc tgggctctgt gactgcccgc gacacggccg tgtattttctg tgcgagagcc 300
 gattacgatt tttggagtgg ttattttgac ttctggggcc agggaaacct ggtcaccgtc 360
 tcctc 365

15 <210> 146
 <211> 121
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

25 <400> 146

ES 2 647 466 T3

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

5 <210> 147
 <211> 322
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético
 <400> 147

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcaagtca gggcattaga aatgatttag gctggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca caatcagcag cctgcagcct 240
gaagattttg caacttatta ctgtctacag cataatgggt acccgtggac gttcggccaa 300
gggaccaagg tggaaatcaa ac 322

15 <210> 148
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

ES 2 647 466 T3

<400> 148

```

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 Gly Ile Arg Asn Asp
          20           25           30

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

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

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln His Asn Gly Tyr Pro Trp
          85           90           95

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

5 <210> 149
 <211> 365
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético

<400> 149

```

cagggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcacagac cctgtccctc      60
acctgcactg tctctgggtg ctccatcagc agtggtgatt actactggag ctggatccgc      120
cagtaccag ggaagggcct ggagtggatt ggtacatct attacagtgg gagcacctac      180
tacaaccgt ccctcaagag tcgagttacc atatcagtag acacgtctaa gaaccagttc      240
tcctgaagc tgggctctgt gactgccgcg gacacggccg tgtatttctg tgcgagagcc      300
gattacgatt tttggagtgg ttattttgac ttctggggcc agggaaccct ggtcaccgtc      360
tcctc                                          365
    
```

15 <210> 150
 <211> 121
 <212> PRT
 20 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

ES 2 647 466 T3

<400> 150

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

5 <210> 151
 <211> 322
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético

<400> 151

gacatccaga	tgaccagtc	tccatcctcc	ctgtctgcat	ctgtaggaga	cagagtcacc	60
atcacttgcc	gggcaagtca	gggcattaga	aatgatttag	gctggtatca	gcagaaacca	120
gggaaagccc	ctaagcgcct	gatctatgct	gcatccagtt	tgcaaagtgg	ggtcccatca	180
aggttcagcg	gcagtggatc	tgggacagaa	ttcactctca	caatcagcag	cctgcagcct	240
gaagattttg	caacttatta	ctgtctacag	cataatgggt	accctgggac	gttcggccaa	300
gggaccaagg	tggaaatcaa	ac				322

15 <210> 152
 <211> 107
 <212> PRT
 20 <213> Secuencia artificial

ES 2 647 466 T3

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

<400> 152

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 Gly Ile Arg Asn Asp
20 25 30

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

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

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln His Asn Gly Tyr Pro Trp
85 90 95

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

<210> 153

<211> 366

10

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético

15

<400> 153

caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcacagac cctgtccctc 60
acctgcaactg tctctggtgg ctccatcagt agtgggtgatt actactggag ctggatccgc 120
cagcaccag ggaagggcct ggagtggatt gggtagatct attacagtgg gagcacctac 180
tacaaccgct ccctcaagag tcgagttacc atatcagtag acacgtctaa gaaccagttc 240
tcctgaagc tgagctctgt gactgcgcgc gacacggccg tgtattactg tgcgagagcg 300
gattacgatt tttggagtgg ttatattgac tcctggggcc agggaaccct ggtcacctgc 360
tcctca 366

20

<210> 154

<211> 122

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

25

<220>

ES 2 647 466 T3

<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

<400> 154

```

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

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

Asp Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln His Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35          40          45

Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50          55          60

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

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

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

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115          120

```

5

<210> 155

<211> 321

<212> ADN

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético

15 <400> 155

```

gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc      60
atcacttgcc gggcaagtca gggcattaga aatgatttag gctggtatca gcagatacct      120
gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca      180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca caatcagcag cctgcagcct      240
gaagattttg caacttatta ctgtctacag cataatgggtt acccgtggac gttcggccaa      300
gggaccaagg tggaaatcaa a                                          321

```

20

<210> 156

<211> 107

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

ES 2 647 466 T3

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

<400> 156

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 Gly Ile Arg Asn Asp
           20           25           30

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

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

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln His Asn Gly Tyr Pro Trp
           85           90           95

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

<210> 157

<211> 366

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

10

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético

15

<400> 157

```

caggttcagc tgggtgcagtc tggagctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc      60
tcctgcaagg cttctggtta caccttacc aactatggta tcagctgggt gcggcaggcc      120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcagcgctt acgatggta cagaaactat      180
gcacagaagc tccagggcag agtcaccatg accacagaca catccacgac cactgcctac      240
atggagctga ggagcctgag atctgacgac acggccgtgt attactgtgc gagagatggt      300
caagactacg gtgactacga ctactttgac tactggggcc agggaaccct ggtcaccgtc      360

tcctca                                          366
    
```

20

<210> 158

<211> 122

<212> PRT

ES 2 647 466 T3

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

5

<400> 158

```

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
          20          25          30

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

Gly Trp Ile Ser Ala Tyr Asp Gly Tyr Arg Asn Tyr Ala Gln Lys Leu
          50          55          60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Thr Thr Ala Tyr
65          70          75          80

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

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

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
          115          120
    
```

10 <210> 159

<211> 321

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

15

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético

<400> 159

20

```

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc      60
atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc agttatttaa attggtatca gcagaaacca      120
gggaaagccc ctaacctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca      180
agattcaggg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct      240
gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta ccccatcac ctctggccaa      300
gggacacgac tggagattaa a                                                321
    
```

<210> 160

ES 2 647 466 T3

<211> 107
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

<400> 160

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 Ser Ile Ser Ser Tyr
 20 25 30

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

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Arg 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 Ser Thr Pro Ile
 85 90 95

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

10

<210> 161
 <211> 366
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

15

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético

20 <400> 161

caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc ctttacagac cctgtccctc 60
 acctgcactg totctggtgg ctccatcagc agtggtgatt actactggag ctggatccgc 120
 cagcaccag ggaagggcct ggagtggatt gggatcatct attacagtgg gaccacctac 180
 tacaaccogt ccctcaagag tcgagttacc atatcagtag acacgtctaa gaaccagttc 240
 gccctgaagc tgaactctgt gactgccgcg gacacggccg tgtattactg tgcgagagcc 300
 gattacgatt tttggagtgg ttatittgac tactggggcc agggaaccct ggtcaccgtc 360
 tctca 366

<210> 162

ES 2 647 466 T3

<211> 122
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

<400> 162

```

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

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

Asp Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln His Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35          40          45

Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Thr Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50          55          60

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

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

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

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115          120
  
```

10
 <210> 163
 <211> 322
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético

20 <400> 163

```

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc      60
atcacttgcc gggcaggtca gggcattaga aatgatttag gctggtatca gcagaaacca      120
gggaaagccc ctcagcgcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca      180
aggttcagcg gcagtggtac tgggacagaa ttctctctca caatctccag cctgcagcct      240
gaagatdddg caacttatta ctgtctacag cataatagtt acccgtggac gttcggccaa      300
gggaccaagg tggaaatcaa ac                                          322
  
```

ES 2 647 466 T3

<210> 164
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

<400> 164

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 Arg Ala Gly Gln Gly Ile Arg Asn Asp
           20           25           30

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

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

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

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

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

<210> 165
 <211> 369
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

15

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético

<400> 165

20

```

    caggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc ttggtcaagc ctggaggggtc cctgagactc      60
    tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt gactactaca tgagctggat cgcaggct          120
    ccaggggaagg ggctggagtg ggtttcatat attagtagta gtggtaataa catataccac      180
    gcagactctg tgaagggccg attcaccatc tccagggaca acgccaagaa ctcaactgtat      240
    ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgc gagagagaga      300
    tatagtggct acgacgacct tgatggtttt gatatctggg gccaaaggac aatggtcacc      360
    gtctcttca                                     369
    
```

ES 2 647 466 T3

<210> 166
 <211> 123
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

<400> 166

10

```

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

<210> 167
 <211> 321
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

15

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético

20

<400> 167

ES 2 647 466 T3

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcaattgcc aggcgagtc ggacattagc aactatttaa gttggtttca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaagctcct gatccacgat gcatccaatt tggaaacagg ggteccctca 180
 aggttcagtg gaagtggatc tgggacagat tttactttca ccatcagcag cctgcagcct 240
 gaagatattg caacatatta ctgtcaacag tatgataatc ccccgtagcag ttttggccag 300
 gggaccaagc tggagatcaa a 321

5 <210> 168
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético
 <400> 168

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

15 <210> 169
 <211> 366
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético
 <400> 169

```

caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcacagac cctgtccctc      60
acotgcactg tctctggtgg ctccatcagc agtgggttatt actactggag ctggatccgc      120
cagcaccocag ggaagggcct ggagtggatt gggtagatct attacagtgg gaccacctac      180
tacaatccgt cottcaagag tcgagttacc atatcagtag acacgtctaa gaaccagttc      240
tcctgaaac tgagctctgt gactgccgcg gacacggccg tgtattactg tgcgagagcc      300
gattacgatt tttggagtgg tcactttgac tactggggcc agggaaccct ggtcaccgtc      360
toctca                                          366
    
```

5 <210> 170
 <211> 122
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético
 <400> 170

```

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

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

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

Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Thr Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50          55          60

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

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

Cys Ala Arg Ala Asp Tyr Asp Phe Trp Ser Gly His Phe Asp Tyr Trp
100         105         110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115          120
    
```

15 <210> 171
 <211> 321
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

20 <220>

ES 2 647 466 T3

<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético

<400> 171

```

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc      60
atcacttgcc gggcaagtca gggcattaga aatgatttag gctggtatca gcagaaacca      120
gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca      180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca caatcagcag cctgcagcct      240
gaagattttg caacttatta ctgtctacag cataatagtt acccgtggac gttcggccaa      300
gggaccaagg tggaaatcaa a                                             321

```

5

<210> 172

<211> 107

<212> PRT

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

15 <400> 172

```

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 Gly Ile Arg Asn Asp
                20                25                30

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

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

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

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

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

```

20

<210> 173

<211> 365

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

25 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético

ES 2 647 466 T3

<400> 173

```

caggttcagc tgggtgcagtc tggagctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc      60
tcctgcaagg cttctgggta cacctttacc agctatggta tcagctgggt gcgacaggcc      120

cctggacaag gacttgagtg gatgggatgg atcagcgctt acgatgggtca cacaaactat      180
gcacagaagc tccagggcag agtcaccatg accacagaca catccacgaa cacagcctac      240
atggagctga ggagcctgag atctgacgac acggccgttt attactgtgc gagagacccc      300
catgactaca gtaactacga ggcttttgac ttctggggcc agggaaccct ggtcaccgtc      360
tcctc                                                                           365
    
```

5 <210> 174
<211> 121

<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

15 <400> 174

```

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
          20              25              30

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

Gly Trp Ile Ser Ala Tyr Asp Gly His Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Leu
 50              55              60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Asn Thr Ala Tyr
 65              70              75              80

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

Ala Arg Asp Pro His Asp Tyr Ser Asn Tyr Glu Ala Phe Asp Phe Trp
          100              105              110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
          115              120
    
```

<210> 175
<211> 519

ES 2 647 466 T3

<212> ADN
<213> Secuencia artificial

5 <220>
<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético

<400> 175

```
atgaggtccc ctgctcagct cctggggctc ctgctactct ggctccgagg tgccagatgt      60
gacatccaga tgacctagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc      120
atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc agttatttaa attggtatca gcagaaacca      180
gggaaagccc ctaacctcct gatctatgct gcacccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca      240
agattcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct      300
gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta ccccatcac cttcggocaa      360
gggacacgac tggagattaa acgaactgtg gctgcacccat ctgtcttcat cttccogoca      420
tctgatgagc agttgaaatc tggaaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat      480
cccagagagg ccaaagtaca gtggaaggtg gataacgcc                                519
```

10 <210> 176
<211> 107
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

15 <220>
<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

20 <400> 176

ES 2 647 466 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 Ser Ile Ser Ser Tyr
 20 25 30

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

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln 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 Ser Thr Pro Ile
 85 90 95

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

<210> 177
 <211> 534
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético

<400> 177

accatggact ggacctggag ggtccttttc ttggtggcag cagcaacagg tgcccactcc 60
 caggttcagc tgggtcagtc tggagctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 120
 tcttgcaagg cttctggtta cacctttacc aactatggta tcagctgggt gcggcaggcc 180
 cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcagcgtt acgatggta cagaaactat 240
 gcacagaagc tccagggcag agtcaccatg accacagaca catccacgac cactgcctac 300
 atggagctga ggagcctgag atctgacgac acggccgtgt attactgtgc gagagatggt 360
 caagactacg gtgactacga ctactttgac tactggggcc agggaaccct ggtcaccgtc 420
 tectcagctt ccaccaaggg cccatccgtc tccccctgg tgccctgctc caggagcacc 480
 tccgagagca cagccgcctt gggetgctg gtcaaggact acttccccga accg 534

<210> 178
 <211> 122
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

<400> 178

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

115

120

5

<210> 179
 <211> 504
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético

15

<400> 179

ES 2 647 466 T3

```

cagctcctgg ggctcctgct actctggctc cgaggtgcca gatgtgacat ccagatgacc      60
cagtctccat cctccctgct tgcattctgta ggagacagag tcaccatcac ttgccgggca      120
agtcagagca ttagcagtta tttaaattgg tatcagcaga aaccagggaa agcccctaac      180
ctcctgatct atgctgcatc cagtttgcaa agtgggggtcc catcaagatt cagtggcagt      240
ggatctggga cagatttcac tctcaccatc agcagtctgc aacctgaaga ttttgcaact      300
tactactgtc aacagagtta cagtaccccc atcaccttcg gccaaaggac acgactggag      360
attaaacgaa ctgtggctgc accatctgtc ttcattctcc cgccatctga tgagcagttg      420
aaatctggaa ctgcctctgt tgtgtgcctg ctgaataact tctatcccag agaggccaaa      480
gtacagtgga aggtggataa cgcc                                             504

```

<210> 180

<211> 107

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

<400> 180

```

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 Ser Ile Ser Ser Tyr
                20           25           30

```

```

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

```

```

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln 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 Ser Thr Pro Ile

```

85

90

95

```

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

```

<210> 181

<211> 493

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

ES 2 647 466 T3

<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético

<400> 181

```

catctgtggt tcttctctct gctggtggca gctcccagat gggctctgtc ccaggtgcag      60
ctgcaggagt cgggccagg actggtgaag ccttcacaga cctgtccct cacctgcact      120
gtctctggtg gctccatcaa cagtggatgat tactactgga gctggatccg ccagcaccca      180
gggaagggcc tggagtggat tgggtacatc tattacagtg ggagcaccta ctacaaccog      240
tcctcaaga gtcgagttac catatcagta gacacgteta agaaccagtt ctccctgaag      300
ctgagctctg tgactgccgc ggacacggcc gtgtattact gtgcgagagc agattacgat      360
ttttggagtg gttactttga ctactggggc cagggaaacc tggtcaccgt ctctcagcc      420
tocaccaagg gccatcggg cttccccctg gcaccctcct ccaagagcac ctctgggggc      480
5  acaacggccc tgg                                     493

```

<210> 182

<211> 122

<212> PRT

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

15 <400> 182

```

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Asn Ser Gly
          20           25           30

Asp Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln His Pro Gly Lys Gly Leu Glu
          35           40           45

Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50           55           60

Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe

```

ES 2 647 466 T3

65					70						75				80	
	Ser	Leu	Lys	Leu	Ser	Ser	Val	Thr	Ala	Ala	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr
					85					90					95	
	Cys	Ala	Arg	Ala	Asp	Tyr	Asp	Phe	Trp	Ser	Gly	Tyr	Phe	Asp	Tyr	Trp
				100					105					110		
	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser						
			115					120								

5 <210> 183
 <211> 518
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético
 <400> 183

```

atgaggggtcc ctgctcagct cctggggctc ctgctgctct ggttcccagg tgccaggtgt      60
gacatccaga tgaccocagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc      120
atcacttgcc gggcaagtca gggcattaga aatgatttag gctggtatca gcagaaacca      180
gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca      240
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca caatcagcag cctgcagcct      300
gaagattttg caacttatta ctgtctacag cataatagtt acccgtggac gttcggccaa      360
gggaccaagg tggaaatcaa acgaactgtg gctgcaccat ctgtcttcat cttcccgcc      420
tctgatgagc agttgaaatc tggaaactgcc tctgttgtgt gctgctgaa taacttctat      480
cccagagagg ccaaagtaca gtggaagggtg gataacgc      518
  
```

15 <210> 184
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético
 <400> 184

ES 2 647 466 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 Gly Ile Arg Asn Asp
 20 25 30

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

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

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

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

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

5 <210> 185
 <211> 436
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético
 <400> 185

tggttcttcc ttctgctggt ggcagctccc agatgggtcc tgtcccaggt gcagctgcag 60
 gagtcgggcc caggactggt gaagccttca cagaccctgt ccctcacctg cactgtctct 120
 ggtggctcca tcagcagtgg tggttactac tggagctgga tccgccagca cccaggaag 180
 ggctggagt ggattgggta catctattac agtgggagca cctactacaa cccgtccctc 240
 aagagtcgag ttaccatata agtagacacg tctaagaacc agttctccct gaagctgagc 300
 tctgtgactg ccgcgacac gccctgtat tactgtgcca gagatggcta tgatagtagt 360
 ggttattacc acggctactt tgactactgg ggccagggaa cctggtcac cgtctcctca 420
 gcctccacca agggcc 436

15 <210> 186
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

ES 2 647 466 T3

<400> 186

Gln	Val	Gln	Leu	Gln	Glu	Ser	Gly	Pro	Gly	Leu	Val	Lys	Pro	Ser	Gln
1				5					10					15	
Thr	Leu	Ser	Leu	Thr	Cys	Thr	Val	Ser	Gly	Gly	Ser	Ile	Ser	Ser	Gly
			20					25					30		
Gly	Tyr	Tyr	Trp	Ser	Trp	Ile	Arg	Gln	His	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu
		35					40					45			
Trp	Ile	Gly	Tyr	Ile	Tyr	Tyr	Ser	Gly	Ser	Thr	Tyr	Tyr	Asn	Pro	Ser
	50					55					60				
Leu	Lys	Ser	Arg	Val	Thr	Ile	Ser	Val	Asp	Thr	Ser	Lys	Asn	Gln	Phe
65					70					75					80
Ser	Leu	Lys	Leu	Ser	Ser	Val	Thr	Ala	Ala	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr
				85					90					95	
Cys	Ala	Arg	Asp	Gly	Tyr	Asp	Ser	Ser	Gly	Tyr	Tyr	His	Gly	Tyr	Phe
			100					105					110		
Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser			
		115					120					125			

5 <210> 187
 <211> 521
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético

<400> 187

caggctcttca	tttctctgtt	gctctggatc	tctgggtgct	acggggacat	cgatgatgacc	60
cagtctccag	actccctggc	tgtgtctctg	ggcgagaggg	ccaccatcaa	ctgcaagtcc	120
agccagagtg	ttttatacag	ctccaacaat	aagaactact	tagcttggtgta	ccagcagaaa	180
ccaggacagc	ctoctaagct	gctcatttac	tgggcatcta	cccgggaatc	cggggtccct	240
gaccgattca	gtggcagcgg	gtctgggaca	gatttcactc	tcaccatcag	cagcctgcag	300
gctgaagatg	tggcagttta	ttactgtcag	caatattata	gtactccgct	cactttcggc	360
ggagggacca	aggtggagat	caaacgaact	gtggctgcac	catctgtctt	catcttcccg	420
ccatctgatg	agcagttgaa	atctggaact	gcctctgttg	tgtgcctgct	gaataacttc	480
tatcccagag	aggccaaagt	acagtggaag	gtggataacg	c		521

15 <210> 188

ES 2 647 466 T3

<211> 113
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

<400> 188

```

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

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser
          20           25           30

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

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

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

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

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

10 Lys

<210> 189
 <211> 455
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético

20 <400> 189

ES 2 647 466 T3

```

ctgtggttct tctcctgct ggtggcagct occagatggg tctgtccca ggtgcagctg      60
caggagtcgg gcccaggact ggtgaagcct tcacagaccc tgtccctcac ctgcactgtc      120
tctggtggct ccatcagtag tggtgattac tactggagct ggatccgcca gcaccaggg      180
aagggcctgg agtggattgg gtacatctat tacagtggga gcacctacta caaccgtcc      240
ctcaagagtc gagttacat atcagtagac acgtctaaga accagttctc cctgaagttg      300
agctctgtga ctgccgcgga cacggccgtg tattactgtg cgagagccga ttacgatttt      360
tggagtggtt attttgacta ctggggccag ggaaccctgg tcaccgtctc ctcagcctcc      420
accaagggcc catcgggtctt ccccctggca ccctc                                455

```

<210> 190

<211> 122

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

<400> 190

```

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

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

Asp Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln His Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35          40          45

Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50          55          60

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

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

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

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115          120

```

<210> 191

<211> 442

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético

5 <400> 191

```

gtgcccgcctc agcgcctggg gctcctgctg ctctgggtcc caggtgccag gtgtgacatc      60
cagatgaccc agtctccatc ctccctgtct gcatctgtag gagacagagt caccatcact      120
tgccgggcaa gtcagggcat tagaaatgat ttaggctggt atcagcagaa accagggaaa      180
gccctaagc gcctgatcta tgetgcatcc agtttgcaaa gtgggggtccc atcaaggttc      240
agcggcagtg gatctgggac agaattcact ctcaaatca gcagcctgca gcctgaagat      300
tttgcaactt attactgtct acagcataat aattaccggt ggacgttcgg ccaagggacc      360
aaggtggaaa tcaaacgaac tgtggctgca ccatctgtct tcatcttccc gccatctgat      420

gagcagttga aatctggaac tg                                             442
    
```

10 <210> 192

<211> 107

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15 <220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

<400> 192

```

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 Gly Ile Arg Asn Asp
20 25 30

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

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

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

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

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

20

<210> 193

<211> 427

ES 2 647 466 T3

<212> ADN
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético

<400> 193

	tggttcttcc ttctgctggt ggcagctccc agatgggtcc tgtcccaggt gcagctgcag	60
	gagtcgggcc caggactggt gaagccttca cagaccctgt cctcacctg cactgtctct	120
	ggtggctcca tcagcagtgg tgattactac tggagctgga tccgccagca cccaggggaag	180
	ggcctggagt ggattgggta catctattac agtgggagca cctactacaa cccgtccctc	240
	aagagtcgag ttaccatata agtagacacg tctaagaacc agttctccct gaagctgagc	300
10	tctgtgactg ccgcggacac ggccgtgtat ttctgtgcga gagccgatta cgatttttgg	360
	agtggttatt ttgactactg gggccagga accctggtca ccgtctcctc agcctccacc	420
	aagggcc	427

15 <210> 194
 <211> 122
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

<400> 194

ES 2 647 466 T3

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

5

<400> 196

```

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 Gly Ile Arg Asn Asp
          20           25           30

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

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

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

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

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

10 <210> 197

<211> 428

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

15

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético

<400> 197

```

tggttcttcc ttctgctggt ggcagctccc agatgggtcc tgteccaggt gcagctgcag      60

gagtcgggcc caggactggt gaagccttca cagaccctgt ccctcacctg cactgtctct      120

ggtggctcca tcagcagtgg tgattactac tggagctgga tccgccagca cccaggaag      180

ggcctggagt ggattgggta catctattac agtgggagca cctactaaa cccgtccctc      240

aagagtcgag ttaccatata agtagacacg tctaagaacc agttctccct gaagctgagc      300

tctgtgactg ccgcggacac ggccgtgtat ttctgtgcca gagccgatta cgatttttgg      360

aatggttatt ttgactactg gggccagga accctggtca ccgtctcctc agcctccacc      420

aagggccccc                                     428
    
```

20

<210> 198

ES 2 647 466 T3

<211> 122
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

<400> 198

```

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

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

Asp Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln His Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35          40          45

Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50          55          60

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

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

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

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115          120
    
```

10 <210> 199
 <211> 519
 <212> ADN
 15 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético

20 <400> 199

ES 2 647 466 T3

```

atgagggtcc ccgctcagct cctggggctc ctgctgctct ggttcccagg tgccaggtgt      60
gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc      120
atcacttgcc gggcaagtca gggcattaga aatgatttag gctggtatca gcagaaacca      180
gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgct gcttccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca      240
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca caatcagcag cctgcagcct      300
gaagattttg caacttatta ctgtctacag cataatactt acccgtggac gttcggccaa      360
gggaccaagg tggaaatcaa acgaactgtg gctgcacat ctgtcttcat cttcccgcc      420
tctgatgagc agttgaaatc tggaaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat      480
cccagagagg ccaaagtaca gtggaaggtg gataacgcc      519
    
```

5 <210> 200
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

<400> 200

```

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 Gly Ile Arg Asn Asp
          20           25           30

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

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

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

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

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

15 <210> 201
 <211> 398
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético

<400> 201

```

ttggtggcag cagctacagg cacccaacgcc caggtocagc tggtagatc tggggctgag      60
gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggctc toctgcaagg tttccggata cacctcact      120
gaattatcca tgtactgggt gcgacaggct cctggaaaag ggcttgagtg gatggggagt      180
tttgatcctg aagatggtga aacaatctac gcacagaagt tccagggcag agtcaccatg      240
accgaggaca catctacaga cacagcctac atggagctga gcagcctgag atctgaggac      300
acggccgtgt attactgtgc aactgggtgg aactacgtct ttgactactg gggccagggg      360
acctgggtca ccgtctcctc agcctccacc aagggcc      398
    
```

5 <210> 202
 <211> 117
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

<400> 202

```

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Val Ser Gly Tyr Thr Leu Thr Glu Leu
20          25          30

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

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

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Glu Asp Thr Ser Thr Asp Thr Ala Tyr
65          70          75          80

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

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

Val Thr Val Ser Ser
115
    
```

15 <210> 203
 <211> 388
 <212> ADN

ES 2 647 466 T3

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético

5

<400> 203

```

ggatccagtg gggatattgt gatgactcag tctccactct ccctgcccggt cacccttgga      60
gagccggcct ccatctcctg caggtccagt cagagcctcc tgcatagtaa tggatacaac      120
tatttggatt ggtacctgca gaagccaggg cagtctccac agctcctgat ctatttggat      180
tctcatcggg cctccgggggt ccctgacagg ttcagtgcca gtggatcagg cacagatttt      240
aactgaaaa tcagcagagt ggaggctgag gatgttgggg tttattactg catgcaagct      300
ctacaaactc cgctcacttt cggcggaggg accaaggtgg agatcaaacg aactgtggct      360
gcaccatctg tcttcatctt cccgccat                                          388
    
```

10

<210> 204

<211> 112

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

<400> 204

```

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

20

<210> 205

<211> 446

<212> ADN

25

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético

5 <400> 205

```

tggttcttcc ttctgctggt ggcagctccc agatgggtcc tgtcccaggt gcagctgcag      60
gagtcggggcc caggactggt gaagccttca cagaccctgt ccctcacctg cactgtctct      120
ggtggctcca tcagcagtgg tgattactac tggagctgga tccgccagca cccaggggaag      180
ggcctggagt ggattgggta catctattac agtgggagca cctactacaa cccgtccctc      240
aagagtcgag ttaccatata agtagacacg tctaagaacc agttctccct gaagctgagc      300
tctgtgactg ccgcgacac ggccgtgtat ttctgtgoga gagccgatta cgatttttgg      360
agtggttatt ttgactactg gggccagggg accctgggtca ccgtctcctc agcctccacc      420
aagggcccat cgagtcttcc cctctgg                                     446

```

<210> 206

10 <211> 122

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

<400> 206

```

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

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

Asp Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln His Pro Gly Lys Gly Leu Glu
                35                40                45

Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50                55                60

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

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

```

20

ES 2 647 466 T3

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

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

5 <210> 207
 <211> 519
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético
 <400> 207

```

atgaggggtcc ccgctcagct cctggggctc ctgctgctct ggttcccagg tgccagggtg      60
gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc      120
atcacttgcc gggcaagtca gggcattaga aatgatttag gctggtatca gcagaaacca      180
gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca      240
aggttcagcg gcagtggatc tgggacaaaa ttcactctca ctatcagcag cctgcagcct      300
gaagattttg caacttatta ctgtctacag cataatactt acccgtggac gttcggccaa      360
gggaccaagg tggaaatcag acgaactgtg gctgcacat ctgtcttcat cttcccgcca      420
tctgatgagc agttgaaatc tggaaactgcc tctggtgtgt gcctgctgaa taacttctat      480
cccagagagg ccaaagtaca gtggaagggtg gataacgcc      519
    
```

15 <210> 208
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético
 <400> 208

ES 2 647 466 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 Gly Ile Arg Asn Asp
 20 25 30

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

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

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

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

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

<210> 209

<211> 564

5 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético

<400> 209

```

accatgaaac atctgtgggtt cttcctcctg ctgggtggcag ctcccagatg ggtcctgtcc      60
caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctgggtgaagc cttcacagac cctgtccctc      120
acctgcactg tctctggtgg ctccatcagc agtgggtgatt actactggag ctggatccgc      180
cagcacccag ggaagggcct ggagtggatt gggtagatct attacagtgg gagcacctac      240
tacaaccctg ccctcaagag tcgagttacc atatcagtag acacgtctaa gaaccagttc      300
tcctgaagc tgagctctgt gactgcccgg gacacggccg tgtattactg tgcgagagcg      360
gattacgatt tttggagtgg ttatcttgac tactggggcc agggaatcct ggtcaccgtc      420
tcctcagcct ccaccaaggg cccatcggtc ttccccctgg caccctcctc caagaacacc      480
tctgggggca cagcggccct gggctgcctg gtcaaggact acttccccga accggtgacg      540
gtgtcctgga actcaggcgc cctg                                             564
  
```

15 <210> 210

<211> 122

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20 <220>

ES 2 647 466 T3

<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

<400> 210

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

5

<210> 211

<211> 519

<212> ADN

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético

15 <400> 211

atgaggggtcc	ccgctcagct	cctggggctc	ctgctgctct	ggttcccagg	tgccaggtgt		60
gacatccaga	tgaccocagtc	tccatcctcc	ctgtctgcat	ctgtaggaga	cagagtcacc		120
atcacttgcc	gggcaagtca	gggcattaga	aatgatttag	gctgggatca	gcagaaacca		180
gggaaagccc	ctaagcgcct	gatctatgct	gcatccagtt	tgcaaagtgg	ggtcccatca		240
aggttcagcg	gcagtggatc	tgggacagaa	ttcactctca	caatcagcag	cctgcagcct		300
gaagattttg	caacttatta	ctgtctacag	cataatagtt	accctgggac	gttcggccaa		360
gggaccaagg	tggaaatcaa	acgaactgtg	gctgcacat	ctgtcttcat	cttcccgcga		420
tctgatgagc	agttgaaatc	tggaactgcc	tctgttgtgt	gcctgctgaa	taacttctat		480
cccagagagg	ccaaagtaca	gtggaaggtg	gataacgcc				519

<210> 212
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

<400> 212

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 Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp
                20           25           30

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

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

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

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

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

<210> 213
 <211> 432
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

15

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético

20

<400> 213

```

tggttcttcc ttctgctggt ggcagctccc agatgggtcc tgtcccaggt gcagctgcag      60
gagtggggcc caggactggt gaagccttca cagaccctgt cctcacctg cactgtctct      120
ggtggctcca tcagcagtgg tgattactac tggagctgga tccgccagca cccaggggaag      180
ggcctggagt ggattggata catctattac agtgggagca cctactacaa ttcgtccctc      240
aagagtcgag ttaccatatc agtagacacg tctaagaacc agttctccct gaagctgagc      300
tctgtgactg ccgcgacac gcccggtgat tactgtgcga gagcggatta cgatttttgg      360
agtggttatt ttgactactg gggccagggga accctggtca cegtctcctc agcctccacc      420
aagggcccat cg                                          432
    
```

ES 2 647 466 T3

<210> 214
 <211> 122
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

<400> 214

10

```

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

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

Asp Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln His Pro Gly Lys Gly Leu Glu
          35           40           45

Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Ser Ser
50           55           60

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

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

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

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
          115           120
    
```

<210> 215
 <211> 372
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

15

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético

20

<400> 215

ES 2 647 466 T3

```

ggtgccaggt gtgacatcca gatgaccag tctccatcct ccctgtctgc atctgtagga      60
gacagagtca ccatcacttg ccgggcaagt cagggcatta gaaatgattt aggctggtat      120
cagcagaaac ctgggaaagc ccctaagcgc ctgatctatg ctgcatccag tttgcaaagt      180
ggggtcccat caaggttcag cggcagtgga tctgggacag aattcactct cacaatcagc      240
agcctgcagc ctgaagattt tgcaacttat tactgtctac agcacaatag ttaccctggtg      300
acgttcggcc aagggaccaa ggtgaaatc aaacgaactg tggctgcacc atctgtcttc      360
atcttccgc ca                                                                372

```

5 <210> 216
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético
 <400> 216

```

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 Gly Ile Arg Asn Asp
           20           25           30

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

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

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

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

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

```

15 <210> 217
 <211> 548
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético
 <400> 217

ES 2 647 466 T3

```

aggttcttcc ttctgctggt ggcagctccc agatgggtcc tgtcccaggt gcagctgcag      60
gagtcggggcc caggactggt gaagccttca cagaccctgt cctcacctg cactgtctct      120
ggtggctcca tcagcagtgg tgattactac tggagctgga tccgccagca cccaggggaag      180
ggcctggagt ggattggata catctattac agtgggagca cctactacaa cccgtccctc      240
aagagtcgag ttacatatac agtagacacg tctaagaacc agttctccct gaagctgagc      300
tctgtgactg ccgcggacac ggccgtgtat tactgtgcca gagccgatta cgatttttgg      360
agtggttatt ttgactactg gggccaggga accctgggtca cctctctctc agcctccacc      420
aagggcccat cggctcttccc cctggcacc cctccaaga gcacctctgg gggcacagcg      480
gcctctgggt gcctgggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacggtgtc gtggaactca      540
ggcgcctt                                         548
    
```

<210> 218
 <211> 122
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético
 <400> 218

```

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

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

Asp Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln His Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35          40          45

Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50          55          60

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

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

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

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115          120
    
```

ES 2 647 466 T3

<210> 219
 <211> 517
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético

<400> 219

10

atgaggggtcc cegctcagct cctggggctc ctgctgctct ggttcccagg tgccagggtgt	60
gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc	120
atcacttgcc gggcaagtca gggcattaga aatgatttag gctggtatca gcagaaacca	180
gggaaagccc ctaagcgct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca	240
aggttcagcg gcagtggtatc tgggacagaa ttcactetca caatcagcag cctgcagcct	300
gaagatthtg caacttatta ctgtctacag cataatagtt acccgtggac gtcgggcaa	360
gggaccaagg tggaaatcaa acgaactgtg gctgcaccat ctgtcttcat ctcccccca	420
tctgatgagc agttgaaatc tggaaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat	480
cccagagagg ccaaagtaca gtggaaggtg gataacg	517

<210> 220
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

20

<400> 220

ES 2 647 466 T3

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

5 <210> 223
 <211> 419
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético
 <400> 223

atgagggtcc ccgctcagct cctggggctc ctgctgctct gggtcccagg tgccaggtgt 60
 gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 120
 atcacttgcc gggcaagtca gggcattaga gatgatttag gctggtatca gcagaaacca 180
 gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgct gaatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 240
 aggttcagcg gcagtgatc tgggacagaa ttactctca caatcagcag cctgcagcct 300
 gaagatdddg caacttatta ctgtctacag catcatagtt acccgtggac gttcggccaa 360
 gggaccaagg tggaatcaa acgaactgtg gctgcacat ctgtcttcat cttcccgcc 419

15 <210> 224
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20

ES 2 647 466 T3

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

<400> 224

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 Gly Ile Arg Asp Asp
20 25 30

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

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

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

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

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

<210> 225

<211> 504

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

10

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético

<400> 225

15

```

tggtgagct gggtttctc cgttgctctt ttaagagggtg tccagtgtca ggtgcagctg 60

gtggagtctg ggggaggcgt ggtccagcct gggagggtccc tgagactctc ctgtgcagcg 120
tctggattca ccttcaatag ctatgacatg cactgggtcc gccaggctcc aggcaagggg 180
ctggagtggg tggcagttat atggtatgat ggaagtaata aatactatgc agactccgtg 240
aagggccgat tcaccatctc tagagacaat tccaagaaca cgctgtatct gcaaatgaac 300
agcctgagag ccgaggacac ggctgtgtat tactgtgcca gagaccgctt gtgtactaat 360
ggtgtatgct atgaagacta cggatggac gtctggggcc aagggaccac ggtcacctgc 420
tcctcagctt ccaccaaggc cccatccgtc ttccccctgg cgccctgctc caggagcacc 480
tccgagagca cagccgcctt gggc 504
    
```

20

<210> 226

ES 2 647 466 T3

<211> 126
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

<400> 226

Gln	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Val	Val	Gln	Pro	Gly	Arg
1				5					10					15	
Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Asn	Ser	Tyr
			20					25					30		
Asp	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
		35					40					45			
Ala	Val	Ile	Trp	Tyr	Asp	Gly	Ser	Asn	Lys	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val
	50					55					60				
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr
65					70				75					80	
Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
				85					90					95	
Ala	Arg	Asp	Arg	Leu	Cys	Thr	Asn	Gly	Val	Cys	Tyr	Glu	Asp	Tyr	Gly
			100					105					110		
Met	Asp	Val	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser		
		115					120					125			

10

<210> 227
 <211> 504

15 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético

20

<400> 227

ES 2 647 466 T3

```

atgagggtcc ctgctcagct cctggggctc ctgctgctct ggctctcagg tgccagatgt      60
gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc      120
atcacttgcc aggcgagtc ggacattagc aactatntaa attggtatca gcagaaacca      180
gggaaagccc ctaaggctct gatctacgat gcatccaatt tggaaacagg ggtcccatca      240
aggttcagtg gaagtggatc tgggacagat tttactttca ccatcagcag cctgcagcct      300
gaagatgttg caacatatta ctgtcaaacac tatgatactc tcccgctcac tttcggcgga      360
gggaccaagg tggagatcaa acgaactgtg gctgcaccat ctgtcttcat cttcccgeca      420
tctgatgagc agttgaaatc tggaaactgcc tctgtttgtg gcctgctgaa taacttctat      480
cccagagagg ccaaagtaca gtgg                                          504

```

<210> 228

<211> 107

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10

<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

<400> 228

```

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

```

15 <210> 229

<211> 472

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

20

<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético

ES 2 647 466 T3

<400> 229

```

ggactgtgca agaacatgaa acacctgtgg ttcttcctcc tgctggtggc agctcccaga      60
tggttcctgt cccaggtgca gctgcaggag tggggcccag gactggtgaa gcttttacag      120
acctgtccc tcacctgcac tgtctctggt ggctccatca gcagtgggta ttactactgg      180
agctggatcc gccagcacc cagggaagggc ctggagtgga ttgggtacat ctattacagt      240
gggaccacct actacaacc gtcctcaag agtcgagtta ccatatcagt agacacgtct      300
aagaaccagt tcgacctgaa gctgaactct gtgactgccg cggacacggc cgtgtattac      360
tgtgcgagag ccgattacga tttttggagt ggttattttg actactgggg ccaggggaacc      420
ctggtcacog tctctcagc ttcaccaag ggcccatccg tcttcccct gg                    472
    
```

5 <210> 230
 <211> 122
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

<400> 230

```

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

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

Asp Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln His Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35           40           45

Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Thr Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50           55           60

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

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

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

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115           120
    
```

15 <210> 231

ES 2 647 466 T3

<211> 531
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polinucleótido sintético

<400> 231

atgaggggtcc ctgctcagct cctgggggtc ctgctgctct ggttcccagg tgccaggtgt	60
gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc	120
atcacttgcc gggcaggtca gggcattaga aatgatttag gctggtatca gcagaaacca	180
gggaaagccc ctcagcgcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca	240
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttctctctca caatctccag cctgcagcct	300
gaagattttg caacttatta ctgtctacag cataatagtt acccgtggac gttcggccaa	360
gggaccaagg tggaaatcaa acgaaactgtg gctgcaccat ctgtcttcat cttcccgcca	420
tctgatgagc agttgaaatc tggaaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat	480
cccagagagg ccaaagtaca gtggaagggtg gataacgccc ttccaatcgg g	531

10

<210> 232
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción de polipéptido sintético

20 <400> 232

ES 2 647 466 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 Gly Gln Gly Ile Arg Asn Asp
 20 25 30

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

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

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

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

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

- 5 <210> 233
 <211> 26
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
- 10 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Cebador sintético
 <400> 233
 cgggatccat gtctagcct aggggc 26
- 15 <210> 234
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
- 20 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Cebador sintético
 <400> 234
 gctctagatt aatgatgatg atgatgatgt tgcctaac agtcttg 47
- 30 <210> 235
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
- 35 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
 <400> 235

ES 2 647 466 T3

Gly Gly Ser Ile Asn Ser Gly Asp Tyr Tyr Trp Ser
 1 5 10

5 <210> 236
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
 <400> 236

Gly Gly Ser Ile Ser Ser Gly Asp Tyr Tyr Trp Ser
 1 5 10

15 <210> 237
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
 <400> 237

Gly Gly Ser Ile Ser Ser Gly Gly Tyr Tyr Trp Ser
 1 5 10

25 <210> 238
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
 <400> 238

Gly Tyr Thr Leu Thr Glu Leu Ser Met Tyr
 1 5 10

40 <210> 239
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

45 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
 <400> 239

Gly Gly Ser Val Ser Ser Gly Gly Tyr Tyr Trp Ser
 1 5 10

50 <210> 240
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

ES 2 647 466 T3

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

5 <400> 240

Gly Phe Thr Phe Asn Ser Tyr Asp Met His
1 5 10

<210> 241

10 <211> 10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 241

Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr Gly Ile Ser
1 5 10

20

<210> 242

<211> 10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

25

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 242

30

Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr Tyr Met Ser
1 5 10

<210> 243

35 <211> 12

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

40 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 243

Gly Gly Ser Ile Ser Ser Gly Tyr Tyr Tyr Trp Ser
1 5 10

45 <210> 244

<211> 10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

50 <220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 244

Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Gly Ile Ser
1 5 10

55

<210> 245
 <211> 12
 <212> PRT
 5 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
 10 <400> 245

Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser Gly Val Gly Val Gly
1 5 10

 <210> 246
 <211> 10
 <212> PRT
 15 <213> Secuencia artificial

 <220>
 20 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

 <400> 246

Gly Phe Thr Val Ser Ser Asn Tyr Met Ser
1 5 10

 25 <210> 247
 <211> 10
 <212> PRT
 30 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

 <400> 247
 35

Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr Trp Ile Gly
1 5 10

 <210> 248
 <211> 10
 40 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
 45
 <400> 248

Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Asp Ile Asn
1 5 10

 50 <210> 249
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 55 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

ES 2 647 466 T3

<400> 249

Gly Asp Ser Val Ser Ser Asn Ser Ala Ala Trp Asn
1 5 10

5 <210> 250
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 250

Gly Gly Ser Ile Ser Ser Tyr Tyr Trp Ser
1 5 10

15 <210> 251
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

25 <400> 251

Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr Tyr Met His
1 5 10

30 <210> 252
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

35 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 252

Gly Phe Thr Phe Ser Ile Tyr Ser Met Asn
1 5 10

40 <210> 253
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

45 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 253

50 **Gly Gly Ser Val Ser Ser Gly Gly Tyr Tyr Trp Asn**
1 5 10

55 <210> 254
 <211> 12
 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

5

<400> 254

Gly Gly Ser Val Ser Ser Gly Gly Tyr Tyr Trp Asn
1 5 10

10

<210> 255

<211> 10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 255

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly Met His
1 5 10

20

<210> 256

<211> 10

<212> PRT

25

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

30

<400> 256

Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr Tyr Trp Ser
1 5 10

35

<210> 257

<211> 12

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

40

<223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 257

Gly Val Ser Ile Ser Ser Gly Gly Tyr Tyr Trp Ser
1 5 10

45

<210> 258

<211> 16

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

50

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 258

55

ES 2 647 466 T3

Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
1 5 10 15

5 <210> 259
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
 <400> 259

Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu Arg Ser
1 5 10 15

15 <210> 260
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
 <400> 260

Gly Phe Asp Pro Glu Asp Gly Glu Thr Ile Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15

25 **Gly**
 <210> 261
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
 <400> 261

Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
1 5 10 15

40 <210> 262
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

45 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
 <400> 262

Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Ser Ser Leu Lys Ser
1 5 10 15

50 <210> 263
 <211> 16

<212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 5 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 263

Tyr Ile Tyr Asp Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
 1 5 10 15

10 <210> 264
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 15 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 264

20 Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 265
 <211> 16
 25 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 30 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 265

Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Thr Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
 1 5 10 15

35 <210> 266
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 40 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 266

Trp Ile Ser Ala Tyr Asp Gly Tyr Arg Asn Tyr Ala Gln Lys Leu Gln
 1 5 10 15

Gly

45 <210> 267
 <211> 17
 <212> PRT
 50 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 267

Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Asn Asn Ile Tyr His Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

5 **Gly**

<210> 268

<211> 16

<212> PRT

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

15 <400> 268

Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Thr Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Phe Lys Ser
1 5 10 15

<210> 269

20 <211> 17

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

25 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 269

Trp Ile Ser Ala Tyr Asp Gly His Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Leu Gln
1 5 10 15

30 **Gly**

<210> 270

<211> 16

<212> PRT

35 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 270

40 **Leu Ile Tyr Trp Asn Asp Asp Lys Arg Tyr Ser Pro Ser Leu Lys Ser**
1 5 10 15

<210> 271

45 <211> 16

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

50 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 271

ES 2 647 466 T3

Val Ile Tyr Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
 1 5 10 15

5 <210> 272
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
 10 <400> 272

Tyr Ile Tyr Ser Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
 1 5 10 15

15 <210> 273
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 20 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
 <400> 273

Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe Gln
 1 5 10 15

25 **Gly**
 <210> 274
 <211> 17
 <212> PRT
 30 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
 35 <400> 274

Ile Ile Trp Pro Gly Asp Ser Asp Thr Ile Tyr Ser Pro Ser Phe Gln
 1 5 10 15

Gly
 <210> 275
 40 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 45 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
 <400> 275

Trp Met Asn Pro Asn Ser Gly Asp Thr Gly Tyr Ala Gln Val Phe Gln
 1 5 10 15

Gly

5 <210> 276
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
 10 <400> 276

Arg Thr Tyr Tyr Arg Ser Lys Trp Tyr Asn Asp Tyr Ala Val Ser Val
 1 5 10 15

Lys Ser

15 <210> 277
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 20 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
 <400> 277

His Ile Tyr Thr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
 1 5 10 15

25 <210> 278
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 30 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
 35 <400> 278

Trp Ile Asn Pro Asn Ile Gly Gly Thr Asn Cys Ala Gln Lys Phe Gln
 1 5 10 15

Gly

40 <210> 279
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 45 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
 <400> 279

ES 2 647 466 T3

Asn Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
 1 5 10 15

5 <210> 280
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
 <400> 280

Tyr Ile Ser Ser Ser Ser Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

15 <210> 281
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
 <400> 281

Tyr Ile Asn Tyr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
 1 5 10 15

25 <210> 282
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
 <400> 282

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

40 <210> 283
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

45 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
 <400> 283

Ala Asp Tyr Asp Phe Trp Ser Gly Tyr Phe Asp Tyr
 1 5 10

50 <210> 284
 <211> 15

<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
5 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 284

Asp Gly Tyr Asp Ser Ser Gly Tyr Tyr His Gly Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10 15

10 <210> 285
<211> 12
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

15 <220>
<223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 285

Ala Asp Tyr Asp Phe Trp Asn Gly Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10

25 <210> 286
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

30 <220>
<223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 286

Gly Trp Asn Tyr Val Phe Asp Tyr
1 5

35 <210> 287
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

40 <220>
<223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 287

Glu Asp Asp Gly Met Asp Val
1 5

45 <210> 288
<211> 14
<212> PRT
50 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

55 <400> 288

ES 2 647 466 T3

Asp Gly Asp Val Asp Thr Ala Met Val Asp Ala Phe Asp Ile
 1 5 10

5 <210> 289
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
 <400> 289

Gly Asp Tyr Asp Phe Trp Ser Gly Glu Phe Asp Tyr
 1 5 10

15 <210> 290
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
 <400> 290

Asp Gln Gly Gln Asp Gly Tyr Ser Tyr Gly Tyr Gly Tyr Tyr Tyr Gly
 1 5 10 15

25 Met Asp Val
 <210> 291
 <211> 12
 <212> PRT
 30 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
 35 <400> 291

Ala Asp Tyr Asp Phe Trp Ser Gly Tyr Phe Asp Phe
 1 5 10

40 <210> 292
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

45 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
 <400> 292

Ala Asp Tyr Asp Phe Trp Ser Gly Tyr Phe Asp Ser
 1 5 10

50 <210> 293

ES 2 647 466 T3

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

5 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
 <400> 293

Asp Arg Leu Cys Thr Asn Gly Val Cys Tyr Glu Asp Tyr Gly Met Asp
1 5 10 15

10 **Val**

<210> 294
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
 20 <400> 294

Asp Val Gln Asp Tyr Gly Asp Tyr Asp Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10

25 <210> 295
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
 <400> 295

Ala Asp Tyr Asp Phe Trp Ser Gly His Phe Asp Cys
1 5 10

35 <210> 296
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
 45 <400> 296

Glu Arg Tyr Ser Gly Tyr Asp Asp Pro Asp Gly Phe Asp Ile
1 5 10

50 <210> 297
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

ES 2 647 466 T3

<400> 297

Ala Asp Tyr Asp Phe Trp Ser Gly His Phe Asp Tyr
1 5 10

5 <210> 298
<211> 13
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 298

Asp Pro His Asp Tyr Ser Asn Tyr Glu Ala Phe Asp Phe
1 5 10

15 <210> 299
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

25 <400> 299

Arg Asp Glu Val Arg Gly Phe Asp Tyr
1 5

30 <210> 300
<211> 6
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

35 <220>
<223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 300

Gly Gln Trp Leu Asp Val
1 5

40 <210> 301
<211> 15
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45 <220>
<223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

50 <400> 301

Asp Arg Glu Leu Glu Leu Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val
1 5 10 15

55 <210> 302
<211> 15
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

ES 2 647 466 T3

<220>
<223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 302

5

Asp Arg Glu Leu Glu Gly Tyr Ser Asn Tyr Tyr Gly Val Asp Val
1 5 10 15

<210> 303
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10

<220>
<223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

15

<400> 303

His Glu Asn Tyr Gly Asp Tyr Asn Tyr
1 5

<210> 304
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20

<220>
<223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

25

<400> 304

Asp Arg Glu Arg Glu Trp Asp Asp Tyr Gly Asp Pro Gln Gly Met Asp
1 5 10 15

Val

30

<210> 305
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

35

<220>
<223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

40

<400> 305

Phe Gly Asp Leu Pro Tyr Asp Tyr Ser Tyr Tyr Glu Trp Phe Asp Pro
1 5 10 15

<210> 306
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45

<220>
<223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

50

<400> 306

ES 2 647 466 T3

Asp Leu Tyr Asp Phe Trp Ser Gly Tyr Pro Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp
1 5 10 15

Val

5 <210> 307
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 307

Asp Tyr Tyr Gly Ser Gly Ser Phe Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val
1 5 10 15

15 <210> 308
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 308

Glu Ala Ile Phe Gly Val Gly Pro Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val
1 5 10 15

25 <210> 309
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

35 <400> 309

Gly Gly Arg Tyr Ser Ser Ser Trp Ser Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp
1 5 10 15

Val

40 <210> 310
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

45 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 310

ES 2 647 466 T3

Gly Gly Asp Ser Asn Tyr Glu Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp
 1 5 10 15

Val

5 <210> 311
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
 <400> 311

Asp Ser Ser Tyr Tyr Asp Ser Ser Gly Tyr Tyr Leu Tyr Tyr Tyr Ala
 1 5 10 15

Met Asp Val

15 <210> 312
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
 <400> 312

Gly Gly Thr Gly Thr Asn Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val
 1 5 10 15

25 <210> 313
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
 35 <400> 313

Asp Arg Gly Asp Phe Asp Ala Phe Asp Ile
 1 5 10

40 <210> 314
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

45 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
 <400> 314

Ala Ala Arg Leu Asp Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val
 1 5 10

ES 2 647 466 T3

5 <210> 315
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
 10 <400> 315

Asp Lys Trp Thr Trp Tyr Phe Asp Leu
 1 5

15 <210> 316
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
 20 <400> 316

Asp Ser Glu Ser Glu Tyr Ser Ser Ser Ser Asn Tyr Gly Met Asp Val
 1 5 10 15

25 <210> 317
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
 30 <400> 317

Gln Met Ala Gly Asn Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val
 1 5 10

40 <210> 318
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
 45 <400> 318

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp Leu Gly
 1 5 10

50 <210> 319
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

55 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

ES 2 647 466 T3

<212> PRT
<213> Secuencia artificial

5 <220>
<223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 324

Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn
1 5 10

10 <210> 325
<211> 11
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

15 <220>
<223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 325

20 **Arg Ala Gly Gln Gly Ile Arg Asn Asp Leu Gly**
1 5 10

25 <210> 326
<211> 11
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

30 <220>
<223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 326

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn
1 5 10

35 <210> 327
<211> 11
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

40 <220>
<223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 327

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asp Asp Leu Gly
1 5 10

45 <210> 328
<211> 11
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

50 <220>
<223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

55 <400> 328

Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Ser
1 5 10

5 <210> 329
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
 <400> 329

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val Tyr Ser Asp Gly Tyr Thr Tyr Leu His
1 5 10 15

15 <210> 330
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
 <400> 330

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp
1 5 10 15

25 <210> 331
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
 <400> 331

Arg Ala Ser Gln Ala Ile Ser Asn Tyr Leu Asn
1 5 10

40 <210> 332
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

45 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
 <400> 332

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Arg Ser Tyr Leu Asn
1 5 10

50 <210> 333
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

55

ES 2 647 466 T3

<220>
<223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 333

5

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu His
1 5 10

<210> 334
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10

<220>
<223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

15

<400> 334

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Leu Ser Asp Gly Gly Thr Tyr Leu Tyr
1 5 10 15

20

<210> 335
<211> 11
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

25

<220>
<223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 335

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ile Tyr Leu His
1 5 10

30

<210> 336
<211> 12
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

35

<220>
<223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

40

<400> 336

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser Tyr Leu Ala
1 5 10

45

<210> 337
<211> 11
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

50

<220>
<223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 337

Gln Ala Ser Gln Asp Ile Thr Asn Tyr Leu Asn
1 5 10

55

ES 2 647 466 T3

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

5 <400> 342

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ile Ser Ile Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 343

10 <211> 7

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 343

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser
1 5

20

<210> 344

<211> 7

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

25

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 344

30

Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser
1 5

<210> 345

<211> 7

35 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

40 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 345

Leu Asp Ser His Arg Ala Ser
1 5

45

<210> 346

<211> 7

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

50

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 346

Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser
1 5

55

<210> 347

ES 2 647 466 T3

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

5 <220>
<223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 347

Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr
1 5

10

15 <210> 348
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

20 <400> 348

Val Ala Ser Asn Leu Glu Thr
1 5

25 <210> 349
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

30 <400> 349

Ala Ala Ser Arg Leu Gln Ser
1 5

35 <210> 350
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

40 <220>
<223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 350

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Asn
1 5

45

50 <210> 351
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

55 <400> 351

ES 2 647 466 T3

Asp Ala Ser Asn Leu Glu Thr
1 5

5 <210> 352
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
<400> 352

Ala Glu Ser Ser Leu Gln Ser
1 5

15 <210> 353
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
<400> 353

Lys Val Ser Asn Trp Asp Ser
1 5

25 <210> 354
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

30 <220>
<223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
<400> 354

Leu Gly Phe His Arg Ala Ser
1 5

40 <210> 355
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45 <220>
<223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
<400> 355

Ala Ala Ser Asn Leu Gln Ser
1 5

50 <210> 356
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

55 <220>

ES 2 647 466 T3

<223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 356

Glu Val Ser Asn Arg Phe Ser
1 5

5

<210> 357

<211> 7

<212> PRT

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

15

<400> 357

Gly Ala Ser Ser Trp Ala Thr
1 5

20

<210> 358

<211> 7

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

25 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 358

Gly Ala Ser Gly Leu Gln Ser
1 5

30

<210> 359

<211> 7

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

35

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 359

40

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Gly
1 5

<210> 360

<211> 9

45

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

50 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 360

Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Trp Thr
1 5

55

<210> 361

<211> 9

ES 2 647 466 T3

<212> PRT
<213> Secuencia artificial

5 <220>
<223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 361

Leu Gln His Asn Gly Tyr Pro Trp Thr
1 5

10 <210> 362
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

15 <220>
<223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 362

20 **Gln Gln Tyr Tyr Ser Thr Pro Leu Thr**
1 5

25 <210> 363
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

30 <220>
<223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 363

Leu Gln His Asn Asn Tyr Pro Trp Thr
1 5

35 <210> 364
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

40 <220>
<223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 364

Leu Gln His Asn Thr Tyr Pro Trp Thr
1 5

45 <210> 365
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

50 <220>
<223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 365

Met Gln Ala Leu Gln Thr Pro Leu Thr
1 5

5 <210> 366
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

10 <400> 366

Met Gln Ala Leu Gln Thr Pro Ile Thr
1 5

15 <210> 367
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 367

Gln Gln Tyr Asp Arg Ser Pro Leu Thr
1 5

25 <210> 368
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 368

35 <210> 369
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

Gln Gln Cys Asp Asn Leu Pro Leu Thr
1 5

40 <210> 369
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

45 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 369

Gln His Tyr Asp Thr Leu Pro Leu Thr
1 5

50 <210> 370
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

55 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 370

Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Ile Thr
1 5

5 <210> 371
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
10 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
<400> 371

Leu Gln His His Ser Tyr Pro Trp Thr
1 5

15 <210> 372
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
20 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
<400> 372

Gln Gln Tyr Asp Asn Pro Pro Cys Ser
1 5

<210> 373
<211> 9
30 <212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
35 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
<400> 373

Met Gln Gly Ala His Trp Pro Ile Thr
1 5

40 <210> 374
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
45 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
<400> 374

Arg Gln Ala Leu Gln Thr Pro Leu Thr
1 5

50 <210> 375
<211> 9
55 <212> PRT
<213> Secuencia artificial

ES 2 647 466 T3

<220>
<223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

5 <400> 375

Gln Gln Asn Asn Ser Leu Pro Ile Thr
1 5

10 <210> 376
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

15 <220>
<223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
<400> 376

Gln Gln Ser Asn Gly Ser Pro Leu Thr
1 5

20 <210> 377
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

25 <220>
<223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
<400> 377

Gln Gln Ser Tyr Ser Asn Pro Leu Thr
1 5

30 <210> 378
<211> 9
<212> PRT
35 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
40 <400> 378

Gln Gln Ser Ile Ser Ser Pro Leu Thr
1 5

45 <210> 379
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

50 <220>
<223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
<400> 379

Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu Thr
1 5

55

ES 2 647 466 T3

<210> 380
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

5

<220>
<223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 380

10

Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Arg Thr
1 5

<210> 381
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

15

<220>
<223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

20

<400> 381

Met Gln Ser Met Gln Leu Pro Ile Thr
1 5

25

<210> 382
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

30

<220>
<223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 382

Gln Gln Ser Tyr Thr Ser Pro Ile Thr
1 5

35

<210> 383
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

40

<220>
<223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

45

<400> 383

Gln Gln Tyr Tyr Thr Thr Pro Leu Thr
1 5

50

<210> 384
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

55

<220>
<223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 384

Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Leu Thr
1 5

5 <210> 385
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
10 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 385

Gln Gln Cys Glu Asn Phe Pro Ile Thr
1 5

15 <210> 386
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
20 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 386

Gln Gln Ser Tyr Ser Ser Pro Leu Thr
1 5

25 <210> 387
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
30 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

35 <400> 387

Gln Gln Tyr Tyr Ser Thr Pro Arg Thr
1 5

40 <210> 388
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
45 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 388

Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Cys Ser
1 5

50 <210> 389
<211> 5511
<212> ADN
55 <213> Homo sapiens

ES 2 647 466 T3

<220>

<221> CDS <222> (194)..(4219)

5 <400> 389

```

acacacacac acccctcccc tgccatccct ccccggaactc cggtccggc tccgattgca      60
atttgaacc tccgctgccg tcgccgcagc agccaccaat tcgccagcgg ttcaggtggc      120
tcttgctcag atgtcctagc ctaggggccc cggggccgga cttggctggg ctcccttcac      180
cctctgcgga gtc atg agg gcg aac gac gct ctg cag gtg ctg ggc ttg      229
          Met Arg Ala Asn Asp Ala Leu Gln Val Leu Gly Leu
          1           5           10
ctt ttc agc ctg gcc cgg ggc tcc gag gtg ggc aac tct cag gca gtg      277
Leu Phe Ser Leu Ala Arg Gly Ser Glu Val Gly Asn Ser Gln Ala Val
          15           20           25
tgt cct ggg act ctg aat ggc ctg agt gtg acc ggc gat gct gag aac      325
Cys Pro Gly Thr Leu Asn Gly Leu Ser Val Thr Gly Asp Ala Glu Asn
          30           35           40
caa tac cag aca ctg tac aag ctc tac gag agg tgt gag gtg gtg atg      373
Gln Tyr Gln Thr Leu Tyr Lys Leu Tyr Glu Arg Cys Glu Val Val Met
          45           50           55           60
ggg aac ctt gag att gtg ctc acg gga cac aat gcc gac ctc tcc ttc      421
Gly Asn Leu Glu Ile Val Leu Thr Gly His Asn Ala Asp Leu Ser Phe
          65           70           75
ctg cag tgg att cga gaa gtg aca ggc tat gtc ctc gtg gcc atg aat      469
Leu Gln Trp Ile Arg Glu Val Thr Gly Tyr Val Leu Val Ala Met Asn
          80           85           90
gaa ttc tct act cta cca ttg ccc aac ctc cgc gtg gtg cga ggg acc      517
Glu Phe Ser Thr Leu Pro Leu Pro Asn Leu Arg Val Val Arg Gly Thr
          95           100           105
cag gtc tac gat ggg aag ttt gcc atc ttc gtc atg ttg aac tat aac      565
Gln Val Tyr Asp Gly Lys Phe Ala Ile Phe Val Met Leu Asn Tyr Asn
          110           115           120
acc aac tcc agc cac gct ctg cgc cag ctc cgc ttg act cag ctc acc      613
Thr Asn Ser Ser His Ala Leu Arg Gln Leu Arg Leu Thr Gln Leu Thr
          125           130           135           140
gag att ctg tca ggg ggt gtt tat att gag aag aac gat aag ctt tgt      661
Glu Ile Leu Ser Gly Gly Val Tyr Ile Glu Lys Asn Asp Lys Leu Cys
          145           150           155
cac atg gac aca att gac tgg agg gac atc gtg agg gac cga gat gct      709

```

ES 2 647 466 T3

His	Met	Asp	Thr	Ile	Asp	Trp	Arg	Asp	Ile	Val	Arg	Asp	Arg	Asp	Ala		
			160					165					170				
gag	ata	gtg	gtg	aag	gac	aat	ggc	aga	agc	tgt	ccc	ccc	tgt	cat	gag	757	
Glu	Ile	Val	Val	Lys	Asp	Asn	Gly	Arg	Ser	Cys	Pro	Pro	Cys	His	Glu		
		175					180				185						
gtt	tgc	aag	ggg	cga	tgc	tgg	ggc	cct	gga	tca	gaa	gac	tgc	cag	aca	805	
Val	Cys	Lys	Gly	Arg	Cys	Trp	Gly	Pro	Gly	Ser	Glu	Asp	Cys	Gln	Thr		
	190					195					200						
ttg	acc	aag	acc	atc	tgt	gct	cct	cag	tgt	aat	ggc	cac	tgc	ttt	ggg	853	
Leu	Thr	Lys	Thr	Ile	Cys	Ala	Pro	Gln	Cys	Asn	Gly	His	Cys	Phe	Gly		
205					210					215					220		
ccc	aac	ccc	aac	cag	tgc	tgc	cat	gat	gag	tgt	gcc	ggg	ggc	tgc	tca	901	
Pro	Asn	Pro	Asn	Gln	Cys	Cys	His	Asp	Glu	Cys	Ala	Gly	Gly	Cys	Ser		
				225					230					235			
ggc	cct	cag	gac	aca	gac	tgc	ttt	gcc	tgc	cgg	cac	ttc	aat	gac	agt	949	
Gly	Pro	Gln	Asp	Thr	Asp	Cys	Phe	Ala	Cys	Arg	His	Phe	Asn	Asp	Ser		
			240					245					250				
gga	gcc	tgt	gta	cct	cgc	tgt	cca	cag	cct	ctt	gtc	tac	aac	aag	cta	997	
Gly	Ala	Cys	Val	Pro	Arg	Cys	Pro	Gln	Pro	Leu	Val	Tyr	Asn	Lys	Leu		
		255					260					265					
act	ttc	cag	ctg	gaa	ccc	aat	ccc	cac	acc	aag	tat	cag	tat	gga	gga	1045	
Thr	Phe	Gln	Leu	Glu	Pro	Asn	Pro	His	Thr	Lys	Tyr	Gln	Tyr	Gly	Gly		
	270					275					280						
gtt	tgt	gta	gcc	agc	tgt	ccc	cat	aac	ttt	gtg	gtg	gat	caa	aca	tcc	1093	
Val	Cys	Val	Ala	Ser	Cys	Pro	His	Asn	Phe	Val	Val	Asp	Gln	Thr	Ser		
285					290					295					300		
tgt	gtc	agg	gcc	tgt	cct	cct	gac	aag	atg	gaa	gta	gat	aaa	aat	ggg	1141	
Cys	Val	Arg	Ala	Cys	Pro	Pro	Asp	Lys	Met	Glu	Val	Asp	Lys	Asn	Gly		
				305					310					315			
ctc	aag	atg	tgt	gag	cct	tgt	ggg	gga	cta	tgt	ccc	aaa	gcc	tgt	gag	1189	
Leu	Lys	Met	Cys	Glu	Pro	Cys	Gly	Gly	Leu	Cys	Pro	Lys	Ala	Cys	Glu		
			320					325					330				
gga	aca	ggc	tct	ggg	agc	cgc	ttc	cag	act	gtg	gac	tcg	agc	aac	att	1237	
Gly	Thr	Gly	Ser	Gly	Ser	Arg	Phe	Gln	Thr	Val	Asp	Ser	Ser	Asn	Ile		
		335					340					345					
gat	gga	ttt	gtg	aac	tgc	acc	aag	atc	ctg	ggc	aac	ctg	gac	ttt	ctg	1285	
Asp	Gly	Phe	Val	Asn	Cys	Thr	Lys	Ile	Leu	Gly	Asn	Leu	Asp	Phe	Leu		
	350					355					360						
atc	acc	ggc	ctc	aat	gga	gac	ccc	tgg	cac	aag	atc	cct	gcc	ctg	gac	1333	
Ile	Thr	Gly	Leu	Asn	Gly	Asp	Pro	Trp	His	Lys	Ile	Pro	Ala	Leu	Asp		
365					370						375				380		
cca	gag	aag	ctc	aat	gtc	ttc	cgg	aca	gta	cgg	gag	atc	aca	ggc	tac	1381	
Pro	Glu	Lys	Leu	Asn	Val	Phe	Arg	Thr	Val	Arg	Glu	Ile	Thr	Gly	Tyr		
				385					390					395			
ctg	aac	atc	cag	tcc	tgg	ccg	ccc	cac	atg	cac	aac	ttc	agt	ggt	ttt	1429	
Leu	Asn	Ile	Gln	Ser	Trp	Pro	Pro	His	Met	His	Asn	Phe	Ser	Val	Phe		
			400					405					410				

ES 2 647 466 T3

tcc aat ttg aca acc att gga ggc aga agc ctc tac aac cgg ggc ttc	1477
Ser Asn Leu Thr Thr Ile Gly Gly Arg Ser Leu Tyr Asn Arg Gly Phe	
415 420 425	
tca ttg ttg atc atg aag aac ttg aat gtc aca tct ctg ggc ttc cga	1525
Ser Leu Leu Ile Met Lys Asn Leu Asn Val Thr Ser Leu Gly Phe Arg	
430 435 440	
tcc ctg aag gaa att agt gct ggg cgt atc tat ata agt gcc aat agg	1573
Ser Leu Lys Glu Ile Ser Ala Gly Arg Ile Tyr Ile Ser Ala Asn Arg	
445 450 455 460	
cag ctc tgc tac cac cac tct ttg aac tgg acc aag gtg ctt cgg ggg	1621
Gln Leu Cys Tyr His His Ser Leu Asn Trp Thr Lys Val Leu Arg Gly	
465 470 475	
cct acg gaa gag cga cta gac atc aag cat aat cgg ccg cgc aga gac	1669
Pro Thr Glu Glu Arg Leu Asp Ile Lys His Asn Arg Pro Arg Arg Asp	
480 485 490	
tgc gtg gca gag ggc aaa gtg tgt gac cca ctg tgc tcc tct ggg gga	1717
Cys Val Ala Glu Gly Lys Val Cys Asp Pro Leu Cys Ser Ser Gly Gly	
495 500 505	
tgc tgg ggc cca ggc cct ggt cag tgc ttg tcc tgt cga aat tat agc	1765
Cys Trp Gly Pro Gly Pro Gly Gln Cys Leu Ser Cys Arg Asn Tyr Ser	
510 515 520	
cga gga ggt gtc tgt gtg acc cac tgc aac ttt ctg aat ggg gag cct	1813
Arg Gly Gly Val Cys Val Thr His Cys Asn Phe Leu Asn Gly Glu Pro	
525 530 535 540	
cga gaa ttt gcc cat gag gcc gaa tgc ttc tcc tgc cac ccg gaa tgc	1861
Arg Glu Phe Ala His Glu Ala Glu Cys Phe Ser Cys His Pro Glu Cys	
545 550 555	
caa ccc atg gag ggc act gcc aca tgc aat ggc tcc ggc tct gat act	1909
Gln Pro Met Glu Gly Thr Ala Thr Cys Asn Gly Ser Gly Ser Asp Thr	
560 565 570	
tgt gct caa tgt gcc cat ttt cga gat ggg ccc cac tgt gtg agc agc	1957
Cys Ala Gln Cys Ala His Phe Arg Asp Gly Pro His Cys Val Ser Ser	
575 580 585	
tgc ccc cat gga gtc cta ggt gcc aag ggc cca atc tac aag tac cca	2005
Cys Pro His Gly Val Leu Gly Ala Lys Gly Pro Ile Tyr Lys Tyr Pro	
590 595 600	
gat gtt cag aat gaa tgt cgg ccc tgc cat gag aac tgc acc cag ggg	2053
Asp Val Gln Asn Glu Cys Arg Pro Cys His Glu Asn Cys Thr Gln Gly	
605 610 615 620	
tgt aaa gga cca gag ctt caa gac tgt tta gga caa aca ctg gtg ctg	2101
Cys Lys Gly Pro Glu Leu Gln Asp Cys Leu Gly Gln Thr Leu Val Leu	
625 630 635	
atc ggc aaa acc cat ctg aca atg gct ttg aca gtg ata gca gga ttg	2149
Ile Gly Lys Thr His Leu Thr Met Ala Leu Thr Val Ile Ala Gly Leu	
640 645 650	
gta gtg att ttc atg atg ctg ggc ggc act ttt ctc tac tgg cgt ggg	2197
Val Val Ile Phe Met Met Leu Gly Gly Thr Phe Leu Tyr Trp Arg Gly	
655 660 665	

ES 2 647 466 T3

cgc cgg att cag aat aaa agg gct atg agg cga tac ttg gaa cgg ggt Arg Arg Ile Gln Asn Lys Arg Ala Met Arg Arg Tyr Leu Glu Arg Gly 670 675 680	2245
gag agc ata gag cct ctg gac ccc agt gag aag gct aac aaa gtc ttg Glu Ser Ile Glu Pro Leu Asp Pro Ser Glu Lys Ala Asn Lys Val Leu 685 690 695 700	2293
gcc aga atc ttc aaa gag aca gag cta agg aag ctt aaa gtg ctt ggc Ala Arg Ile Phe Lys Glu Thr Glu Leu Arg Lys Leu Lys Val Leu Gly 705 710 715	2341
tcg ggt gtc ttt gga act gtg cac aaa gga gtg tgg atc cct gag ggt Ser Gly Val Phe Gly Thr Val His Lys Gly Val Trp Ile Pro Glu Gly 720 725 730	2389
gaa tca atc aag att cca gtc tgc att aaa gtc att gag gac aag agt Glu Ser Ile Lys Ile Pro Val Cys Ile Lys Val Ile Glu Asp Lys Ser 735 740 745	2437
gga cgg cag agt ttt caa gct gtg aca gat cat atg ctg gcc att ggc Gly Arg Gln Ser Phe Gln Ala Val Thr Asp His Met Leu Ala Ile Gly 750 755 760	2485
agc ctg gac cat gcc cac att gta agg ctg ctg gga cta tgc cca ggg Ser Leu Asp His Ala His Ile Val Arg Leu Gly Leu Cys Pro Gly 765 770 775 780	2533
tca tct ctg cag ctt gtc act caa tat ttg cct ctg ggt tct ctg ctg Ser Ser Leu Gln Leu Val Thr Gln Tyr Leu Pro Leu Gly Ser Leu Leu 785 790 795	2581
gat cat gtg aga caa cac cgg ggg gca ctg ggg cca cag ctg ctg ctc Asp His Val Arg Gln His Arg Gly Ala Leu Gly Pro Gln Leu Leu Leu 800 805 810	2629
aac tgg gga gta caa att gcc aag gga atg tac tac ctt gag gaa cat Asn Trp Gly Val Gln Ile Ala Lys Gly Met Tyr Tyr Leu Glu His 815 820 825	2677
ggt atg gtg cat aga aac ctg gct gcc cga aac gtg cta ctc aag tca Gly Met Val His Arg Asn Leu Ala Ala Arg Asn Val Leu Leu Lys Ser 830 835 840	2725
ccc agt cag gtt cag gtg gca gat ttt ggt gtg gct gac ctg ctg cct Pro Ser Gln Val Gln Val Ala Asp Phe Gly Val Ala Asp Leu Leu Pro 845 850 855 860	2773
cct gat gat aag cag ctg cta tac agt gag gcc aag act cca att aag Pro Asp Asp Lys Gln Leu Leu Tyr Ser Glu Ala Lys Thr Pro Ile Lys 865 870 875	2821
tgg atg gcc ctt gag agt atc cac ttt ggg aaa tac aca cac cag agt Trp Met Ala Leu Glu Ser Ile His Phe Gly Lys Tyr Thr His Gln Ser 880 885 890	2869
gat gtc tgg agc tat ggt gtg aca gtt tgg gag ttg atg acc ttc ggg Asp Val Trp Ser Tyr Gly Val Thr Val Trp Glu Leu Met Thr Phe Gly 895 900 905	2917
gca gag ccc tat gca ggg cta cga ttg gct gaa gta cca gac ctg cta Ala Glu Pro Tyr Ala Gly Leu Arg Leu Ala Glu Val Pro Asp Leu Leu	2965

ES 2 647 466 T3

910	915	920	
gag aag ggg gag cgg ttg gca cag ccc cag atc tgc aca att gat gtc			3013
Glu Lys Gly Glu Arg Leu Ala Gln Pro Gln Ile Cys Thr Ile Asp Val			
925	930	935	940
tac atg gtg atg gtc aag tgt tgg atg att gat gag aac att cgc cca			3061
Tyr Met Val Met Val Lys Cys Trp Met Ile Asp Glu Asn Ile Arg Pro			
	945	950	955
acc ttt aaa gaa cta gcc aat gag ttc acc agg atg gcc cga gac cca			3109
Thr Phe Lys Glu Leu Ala Asn Glu Phe Thr Arg Met Ala Arg Asp Pro			
	960	965	970
cca cgg tat ctg gtc ata aag aga gag agt ggg cct gga ata gcc cct			3157
Pro Arg Tyr Leu Val Ile Lys Arg Glu Ser Gly Pro Gly Ile Ala Pro			
	975	980	985
ggg cca gag ccc cat ggt ctg aca aac aag aag cta gag gaa gta gag			3205
Gly Pro Glu Pro His Gly Leu Thr Asn Lys Lys Leu Glu Glu Val Glu			
	990	995	1000
ctg gag cca gaa cta gac cta gac cta gac ttg gaa gca gag gag			3250
Leu Glu Pro Glu Leu Asp Leu Asp Leu Asp Leu Glu Ala Glu Glu			
1005	1010	1015	
gac aac ctg gca acc acc aca ctg ggc tcc gcc ctc agc cta cca			3295
Asp Asn Leu Ala Thr Thr Thr Leu Gly Ser Ala Leu Ser Leu Pro			
1020	1025	1030	
gtt gga aca ctt aat cgg cca cgt ggg agc cag agc ctt tta agt			3340
Val Gly Thr Leu Asn Arg Pro Arg Gly Ser Gln Ser Leu Leu Ser			
1035	1040	1045	
cca tca tct gga tac atg ccc atg aac cag ggt aat ctt ggg gag			3385
Pro Ser Ser Gly Tyr Met Pro Met Asn Gln Gly Asn Leu Gly Glu			
1050	1055	1060	
tct tgc cag gag tct gca gtt tct ggg agc agt gaa cgg tgc ccc			3430
Ser Cys Gln Glu Ser Ala Val Ser Gly Ser Ser Glu Arg Cys Pro			
1065	1070	1075	
cgt cca gtc tct cta cac cca atg cca cgg gga tgc ctg gca tca			3475
Arg Pro Val Ser Leu His Pro Met Pro Arg Gly Cys Leu Ala Ser			
1080	1085	1090	
gag tca tca gag ggg cat gta aca ggc tct gag gct gag ctc cag			3520
Glu Ser Ser Glu Gly His Val Thr Gly Ser Glu Ala Glu Leu Gln			
1095	1100	1105	
gag aaa gtg tca atg tgt agg agc cgg agc agg agc cgg agc cca			3565
Glu Lys Val Ser Met Cys Arg Ser Arg Ser Arg Ser Arg Ser Pro			
1110	1115	1120	
cgg cca cgc gga gat agc gcc tac cat tcc cag cgc cac agt ctg			3610
Arg Pro Arg Gly Asp Ser Ala Tyr His Ser Gln Arg His Ser Leu			
1125	1130	1135	
ctg act cct gtt acc cca ctc tcc cca ccc ggg tta gag gaa gag			3655
Leu Thr Pro Val Thr Pro Leu Ser Pro Pro Gly Leu Glu Glu Glu			
1140	1145	1150	
gat gtc aac ggt tat gtc atg cca gat aca cac ctc aaa ggt act			3700

ES 2 647 466 T3

Asp	Val	Asn	Gly	Tyr	Val	Met	Pro	Asp	Thr	His	Leu	Lys	Gly	Thr		
1155					1160					1165						
ccc	tcc	tcc	cgg	gaa	ggc	acc	ctt	tct	tca	gtg	ggg	ctc	agt	tct		3745
Pro	Ser	Ser	Arg	Glu	Gly	Thr	Leu	Ser	Ser	Val	Gly	Leu	Ser	Ser		
1170					1175					1180						
gtc	ctg	ggt	act	gaa	gaa	gaa	gat	gaa	gat	gag	gag	tat	gaa	tac		3790
Val	Leu	Gly	Thr	Glu	Glu	Glu	Asp	Glu	Asp	Glu	Glu	Tyr	Glu	Tyr		
1185					1190					1195						
atg	aac	cgg	agg	aga	agg	cac	agt	cca	cct	cat	ccc	cct	agg	cca		3835
Met	Asn	Arg	Arg	Arg	Arg	His	Ser	Pro	Pro	His	Pro	Pro	Arg	Pro		
1200					1205					1210						
agt	tcc	ctt	gag	gag	ctg	ggt	tat	gag	tac	atg	gat	gtg	ggg	tca		3880
Ser	Ser	Leu	Glu	Glu	Leu	Gly	Tyr	Glu	Tyr	Met	Asp	Val	Gly	Ser		
1215					1220					1225						
gac	ctc	agt	gcc	tct	ctg	ggc	agc	aca	cag	agt	tgc	cca	ctc	cac		3925
Asp	Leu	Ser	Ala	Ser	Leu	Gly	Ser	Thr	Gln	Ser	Cys	Pro	Leu	His		
1230					1235					1240						
cct	gta	ccc	atc	atg	ccc	act	gca	ggc	aca	act	cca	gat	gaa	gac		3970
Pro	Val	Pro	Ile	Met	Pro	Thr	Ala	Gly	Thr	Thr	Pro	Asp	Glu	Asp		
1245					1250					1255						
tat	gaa	tat	atg	aat	cgg	caa	oga	gat	gga	ggt	ggt	cct	ggg	ggt		4015
Tyr	Glu	Tyr	Met	Asn	Arg	Gln	Arg	Asp	Gly	Gly	Gly	Pro	Gly	Gly		
1260					1265					1270						
gat	tat	gca	gcc	atg	ggg	gcc	tgc	cca	gca	tct	gag	caa	ggg	tat		4060
Asp	Tyr	Ala	Ala	Met	Gly	Ala	Cys	Pro	Ala	Ser	Glu	Gln	Gly	Tyr		
1275					1280					1285						
gaa	gag	atg	aga	gct	ttt	cag	ggg	cct	gga	cat	cag	gcc	ccc	cat		4105
Glu	Glu	Met	Arg	Ala	Phe	Gln	Gly	Pro	Gly	His	Gln	Ala	Pro	His		
1290					1295					1300						
gtc	cat	tat	gcc	cgc	cta	aaa	act	cta	cgt	agc	tta	gag	gct	aca		4150
Val	His	Tyr	Ala	Arg	Leu	Lys	Thr	Leu	Arg	Ser	Leu	Glu	Ala	Thr		
1305					1310					1315						
gac	tct	gcc	ttt	gat	aac	cct	gat	tac	tgg	cat	agc	agg	ctt	ttc		4195
Asp	Ser	Ala	Phe	Asp	Asn	Pro	Asp	Tyr	Trp	His	Ser	Arg	Leu	Phe		
1320					1325					1330						
ccc	aag	gct	aat	gcc	cag	aga	acg	taactcctgc	tcctgtggc							4239
Pro	Lys	Ala	Asn	Ala	Gln	Arg	Thr									
1335					1340											
actcagggag	catttaaatgg	cagctagtgc	cttagaggg	taccgtcttc	tcctattcc											4299
ctctctctcc	caggtcccag	ccccttttcc	ccagtcccag	acaattccat	tcaatctttg											4359
gaggctttta	aacattttga	cacaaaattc	ttatgggatg	tagccagctg	tgcactttct											4419
tctctttccc	aaccccagga	aaggttttcc	ttattttgtg	tgctttccca	gtcccattcc											4479
tcagcttctt	cacaggcact	cctggagata	tgaaggatta	ctctccatat	cccttcctct											4539
caggctcttg	actacttggg	actaggctct	tatgtgtgcc	tttgtttccc	atcagactgt											4599

ES 2 647 466 T3

caagaagagg aaagggagga aacctagcag aggaaagtgt aattttgggtt tatgactcct 4659
aaccocctag aaagacagaa gcttaaaatc tgtgaagaaa gaggttagga gtagatattg 4719
attactatca taattcagca cttaactatg agccaggcat cataactaac ttcacctaca 4779
ttatctcact tagtccttta tcctccttaa aacaattctg tgacatacat attatctcat 4839
ttacacaaa ggaagtcgg gcatggtggc tcatgcctgt aatctcagca ctttgggagg 4899
ctgaggcaga aggattacct gaggcaagga gtttgagacc agcttagcca acatagtaag 4959
accccatct ctttaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aactttagaa ctgggtgcag 5019
tggtctatgc ctgtaatccc agccagcact ttggggaggct gagatgggaa gatcacttga 5079
gcccagaatt agagataagc ctatggaaac atagcaagac actgtctcta caggggaaaa 5139
aaaaaaaaaga aactgagcct taaagagatg aaataaatta agcagtagat ccaggatgca 5199
aaatcctccc aattcctgtg catgtgctct tattgtaagg tgccaagaaa aactgattta 5259
agttacagcc cttgtttaag gggcactggt tcttgttttt gcaactgaatc aagtctaacc 5319
ccaacagcca catcctccta tacctagaca tctcatctca ggaagtgggtg gtgggggtag 5379
tcagaaggaa aaataactgg acatctttgt gtaaaccata atccacatgt gccgtaaagt 5439
atcttctctc cttatccgag ggcaaattca caaggatccc caagatccac ttttagaagc 5499
cattctcctc ca 5511

<210> 390
<211> 1342
<212> PRT
<213> Homo sapiens

5

<400> 390

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

10

ES 2 647 466 T3

Leu Pro Leu Pro Asn Leu Arg Val Val Arg Gly Thr Gln Val Tyr Asp
 100 105 110
 Gly Lys Phe Ala Ile Phe Val Met Leu Asn Tyr Asn Thr Asn Ser Ser
 115 120 125
 His Ala Leu Arg Gln Leu Arg Leu Thr Gln Leu Thr Glu Ile Leu Ser
 130 135 140
 Gly Gly Val Tyr Ile Glu Lys Asn Asp Lys Leu Cys His Met Asp Thr
 145 150 155 160
 Ile Asp Trp Arg Asp Ile Val Arg Asp Arg Asp Ala Glu Ile Val Val
 165 170 175
 Lys Asp Asn Gly Arg Ser Cys Pro Pro Cys His Glu Val Cys Lys Gly
 180 185 190
 Arg Cys Trp Gly Pro Gly Ser Glu Asp Cys Gln Thr Leu Thr Lys Thr
 195 200 205
 Ile Cys Ala Pro Gln Cys Asn Gly His Cys Phe Gly Pro Asn Pro Asn
 210 215 220
 Gln Cys Cys His Asp Glu Cys Ala Gly Gly Cys Ser Gly Pro Gln Asp
 225 230 235 240
 Thr Asp Cys Phe Ala Cys Arg His Phe Asn Asp Ser Gly Ala Cys Val
 245 250 255
 Pro Arg Cys Pro Gln Pro Leu Val Tyr Asn Lys Leu Thr Phe Gln Leu
 260 265 270
 Glu Pro Asn Pro His Thr Lys Tyr Gln Tyr Gly Gly Val Cys Val Ala
 275 280 285
 Ser Cys Pro His Asn Phe Val Val Asp Gln Thr Ser Cys Val Arg Ala
 290 295 300
 Cys Pro Pro Asp Lys Met Glu Val Asp Lys Asn Gly Leu Lys Met Cys
 305 310 315 320
 Glu Pro Cys Gly Gly Leu Cys Pro Lys Ala Cys Glu Gly Thr Gly Ser
 325 330 335
 Gly Ser Arg Phe Gln Thr Val Asp Ser Ser Asn Ile Asp Gly Phe Val
 340 345 350

ES 2 647 466 T3

Asn Cys Thr Lys Ile Leu Gly Asn Leu Asp Phe Leu Ile Thr Gly Leu
 355 360 365

Asn Gly Asp Pro Trp His Lys Ile Pro Ala Leu Asp Pro Glu Lys Leu
 370 375 380

Asn Val Phe Arg Thr Val Arg Glu Ile Thr Gly Tyr Leu Asn Ile Gln
 385 390 400

Ser Trp Pro Pro His Met His Asn Phe Ser Val Phe Ser Asn Leu Thr
 405 410 415

Thr Ile Gly Gly Arg Ser Leu Tyr Asn Arg Gly Phe Ser Leu Leu Ile
 420 425 430

Met Lys Asn Leu Asn Val Thr Ser Leu Gly Phe Arg Ser Leu Lys Glu
 435 440 445

Ile Ser Ala Gly Arg Ile Tyr Ile Ser Ala Asn Arg Gln Leu Cys Tyr
 450 455 460

His His Ser Leu Asn Trp Thr Lys Val Leu Arg Gly Pro Thr Glu Glu
 465 470 475 480

Arg Leu Asp Ile Lys His Asn Arg Pro Arg Arg Asp Cys Val Ala Glu
 485 490 495

Gly Lys Val Cys Asp Pro Leu Cys Ser Ser Gly Gly Cys Trp Gly Pro
 500 505 510

Gly Pro Gly Gln Cys Leu Ser Cys Arg Asn Tyr Ser Arg Gly Gly Val
 515 520 525

Cys Val Thr His Cys Asn Phe Leu Asn Gly Glu Pro Arg Glu Phe Ala
 530 535 540

His Glu Ala Glu Cys Phe Ser Cys His Pro Glu Cys Gln Pro Met Glu
 545 550 555 560

Gly Thr Ala Thr Cys Asn Gly Ser Gly Ser Asp Thr Cys Ala Gln Cys
 565 570 575

Ala His Phe Arg Asp Gly Pro His Cys Val Ser Ser Cys Pro His Gly
 580 585 590

Val Leu Gly Ala Lys Gly Pro Ile Tyr Lys Tyr Pro Asp Val Gln Asn
 595 600 605

ES 2 647 466 T3

Glu Cys Arg Pro Cys His Glu Asn Cys Thr Gln Gly Cys Lys Gly Pro
 610 615 620

Glu Leu Gln Asp Cys Leu Gly Gln Thr Leu Val Leu Ile Gly Lys Thr
 625 630 635 640

His Leu Thr Met Ala Leu Thr Val Ile Ala Gly Leu Val Val Ile Phe
 645 650 655

Met Met Leu Gly Gly Thr Phe Leu Tyr Trp Arg Gly Arg Arg Ile Gln
 660 665 670

Asn Lys Arg Ala Met Arg Arg Tyr Leu Glu Arg Gly Glu Ser Ile Glu
 675 680 685

Pro Leu Asp Pro Ser Glu Lys Ala Asn Lys Val Leu Ala Arg Ile Phe
 690 695 700

Lys Glu Thr Glu Leu Arg Lys Leu Lys Val Leu Gly Ser Gly Val Phe
 705 710 715 720

Gly Thr Val His Lys Gly Val Trp Ile Pro Glu Gly Glu Ser Ile Lys
 725 730 735

Ile Pro Val Cys Ile Lys Val Ile Glu Asp Lys Ser Gly Arg Gln Ser
 740 745 750

Phe Gln Ala Val Thr Asp His Met Leu Ala Ile Gly Ser Leu Asp His
 755 760 765

Ala His Ile Val Arg Leu Leu Gly Leu Cys Pro Gly Ser Ser Leu Gln
 770 775 780

Leu Val Thr Gln Tyr Leu Pro Leu Gly Ser Leu Leu Asp His Val Arg
 785 790 795 800

Gln His Arg Gly Ala Leu Gly Pro Gln Leu Leu Leu Asn Trp Gly Val
 805 810 815

Gln Ile Ala Lys Gly Met Tyr Tyr Leu Glu Glu His Gly Met Val His
 820 825 830

Arg Asn Leu Ala Ala Arg Asn Val Leu Leu Lys Ser Pro Ser Gln Val
 835 840 845

Gln Val Ala Asp Phe Gly Val Ala Asp Leu Leu Pro Pro Asp Asp Lys

ES 2 647 466 T3

Gly His Val Thr Gly Ser Glu Ala Glu Leu Gln Glu Lys Val Ser
1100 1105 1110

Met Cys Arg Ser Arg Ser Arg Ser Arg Ser Pro Arg Pro Arg Gly
1115 1120 1125

Asp Ser Ala Tyr His Ser Gln Arg His Ser Leu Leu Thr Pro Val
1130 1135 1140

Thr Pro Leu Ser Pro Pro Gly Leu Glu Glu Glu Asp Val Asn Gly
1145 1150 1155

Tyr Val Met Pro Asp Thr His Leu Lys Gly Thr Pro Ser Ser Arg
1160 1165 1170

Glu Gly Thr Leu Ser Ser Val Gly Leu Ser Ser Val Leu Gly Thr
1175 1180 1185

Glu Glu Glu Asp Glu Asp Glu Glu Tyr Glu Tyr Met Asn Arg Arg
1190 1195 1200

Arg Arg His Ser Pro Pro His Pro Pro Arg Pro Ser Ser Leu Glu
1205 1210 1215

Glu Leu Gly Tyr Glu Tyr Met Asp Val Gly Ser Asp Leu Ser Ala
1220 1225 1230

Ser Leu Gly Ser Thr Gln Ser Cys Pro Leu His Pro Val Pro Ile
1235 1240 1245

Met Pro Thr Ala Gly Thr Thr Pro Asp Glu Asp Tyr Glu Tyr Met
1250 1255 1260

Asn Arg Gln Arg Asp Gly Gly Gly Pro Gly Gly Asp Tyr Ala Ala
1265 1270 1275

Met Gly Ala Cys Pro Ala Ser Glu Gln Gly Tyr Glu Glu Met Arg
1280 1285 1290

Ala Phe Gln Gly Pro Gly His Gln Ala Pro His Val His Tyr Ala
1295 1300 1305

Arg Leu Lys Thr Leu Arg Ser Leu Glu Ala Thr Asp Ser Ala Phe
1310 1315 1320

Asp Asn Pro Asp Tyr Trp His Ser Arg Leu Phe Pro Lys Ala Asn
1325 1330 1335

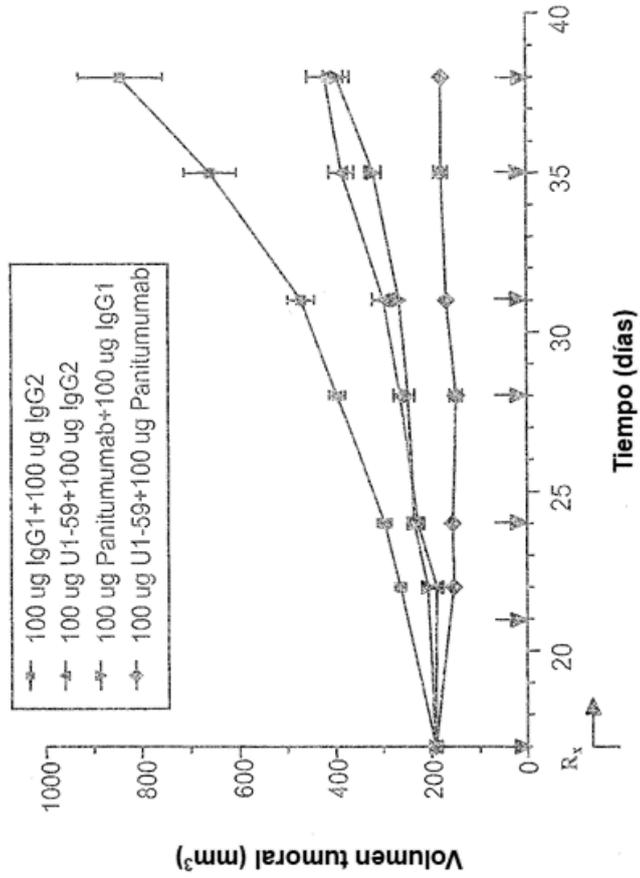
ES 2 647 466 T3

Ala Gln Arg Thr
1340

REIVINDICACIONES

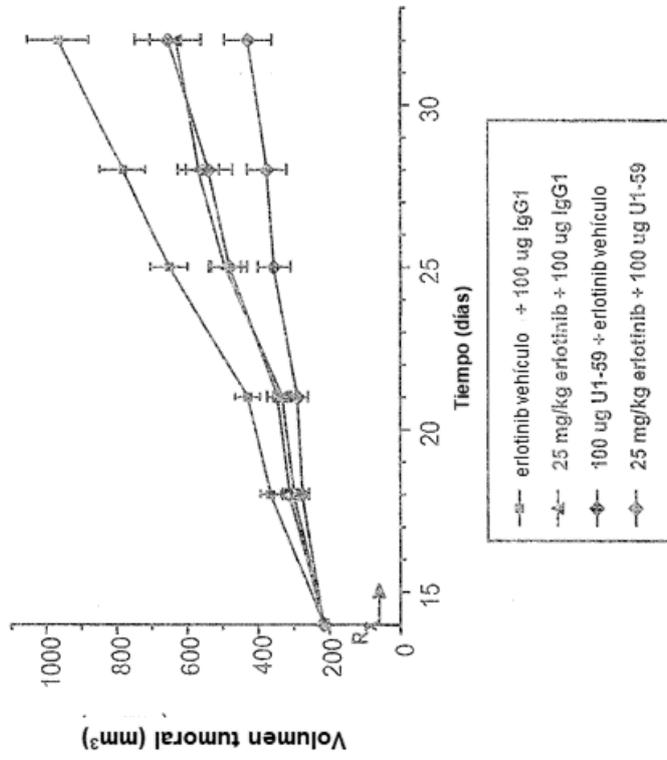
- 5 1. Un primer agente y un segundo agente, donde dicho primer agente es una proteína de unión a antígeno que se une a HER-3 y comprende: una secuencia de aminoácidos de la cadena pesada que comprende una CDRH1 como se muestra en la SEQ ID NO: 256; una CDRH2 como se muestra en la SEQ ID NO: 282; una CDRH3 como se muestra en la SEQ ID NO: 315; y una secuencia de aminoácidos de la cadena ligera que comprende una CDRL1 como se muestra en la SEQ ID NO: 340; una CDRL2 como se muestra en la SEQ ID NO: 344; una CDRL3 como se muestra en la SEQ ID NO: 387, y donde el segundo agente es Erlotinib, para uso en el tratamiento o la prevención del cáncer de pulmón.
- 10 2. El primer agente y el segundo agente para el uso de la reivindicación 1, donde dicho primer agente comprende una secuencia de aminoácidos de la cadena pesada como se muestra en la SEQ ID NO: 70 o/y una secuencia de aminoácidos de la cadena ligera como se muestra en la SEQ ID NO: 72.
- 15 3. El primer agente y el segundo agente para el uso de la reivindicación 1, donde dicho primer agente comprende la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de la SEQ ID NO: 70 y la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de la SEQ ID NO: 72.
- 20 4. El primer agente y el segundo agente para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, donde dicho primer agente es un anticuerpo, particularmente un anticuerpo monoclonal, un anticuerpo policlonal, un anticuerpo recombinante, un anticuerpo humanizado, un anticuerpo humano, un anticuerpo quimérico, un anticuerpo multiespecífico, o un fragmento de anticuerpo del mismo, particularmente un fragmento Fab, un fragmento Fab', un fragmento F(ab')₂, un fragmento F_v, un diacuerpo, o una molécula de anticuerpo monocatenario, particularmente un anticuerpo del tipo IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4.
- 25 5. El primer agente y el segundo agente para el uso de la reivindicación 1, donde el mencionado primer agente se acopla a un grupo efector, particularmente a un radioisótopo o radionucleido, una toxina, o un grupo terapéutico o quimioterapéutico, donde el grupo terapéutico o quimioterapéutico es preferentemente caliqueamicina, auristatina PE, geldanamicina, maitansina y los derivados de las mismas.
- 30 6. El primer agente y el segundo agente para el uso de la reivindicación 1, donde dicho tratamiento de prevención comprende administrar un agente terapéutico adicional y/o radioterapia, donde el agente terapéutico adicional es preferentemente un agente antineoplásico o un anticuerpo antitumoral o un agente quimioterapéutico, donde el agente quimioterapéutico se selecciona preferentemente entre el grupo que consiste en capecitabina, antraciclina, doxorubicina, ciclofosfamida, paclitaxel, docetaxel, cisplatino, gemcitabina, y carboplatino.
- 35 7. El primer agente y el segundo agente para el uso de la reivindicación 1, donde dicho primer agente y dicho segundo agente son para la administración mediante administración intravenosa, subcutánea, intramuscular u oral.
- 40 8. El primer agente y el segundo agente para el uso de la reivindicación 1, comprendiendo dicho tratamiento o prevención administrar dicho primer agente o segundo agente a una dosis de aproximadamente 1 a aproximadamente 20 mg/kg de peso corporal, al menos una vez cada 6 semanas.
- 45 9. El primer agente y el segundo agente para el uso de la reivindicación 1, comprendiendo además dicho tratamiento o prevención, antes de la administración a un sujeto, el análisis de un marcador predictivo para seleccionar un sujeto que tiene cáncer de pulmón.
- 50 10. El primer agente y el segundo agente para el uso de la reivindicación 1, comprendiendo además dicho tratamiento o prevención, tras la administración a un sujeto, vigilar el resultado terapéutico.

Figura 1



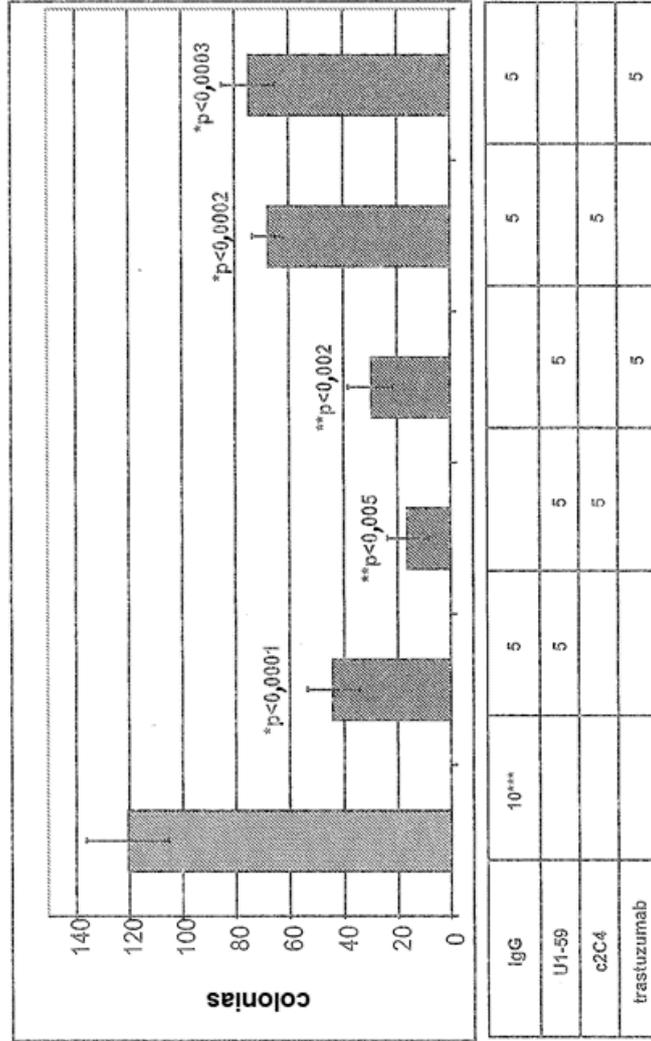
U1-59+IgG2 vs U1-59+Panitumumab $p < 0,0001$
Panitumumab+IgG1 vs U1-59+Panitumumab $p < 0,0001$

Figura 2



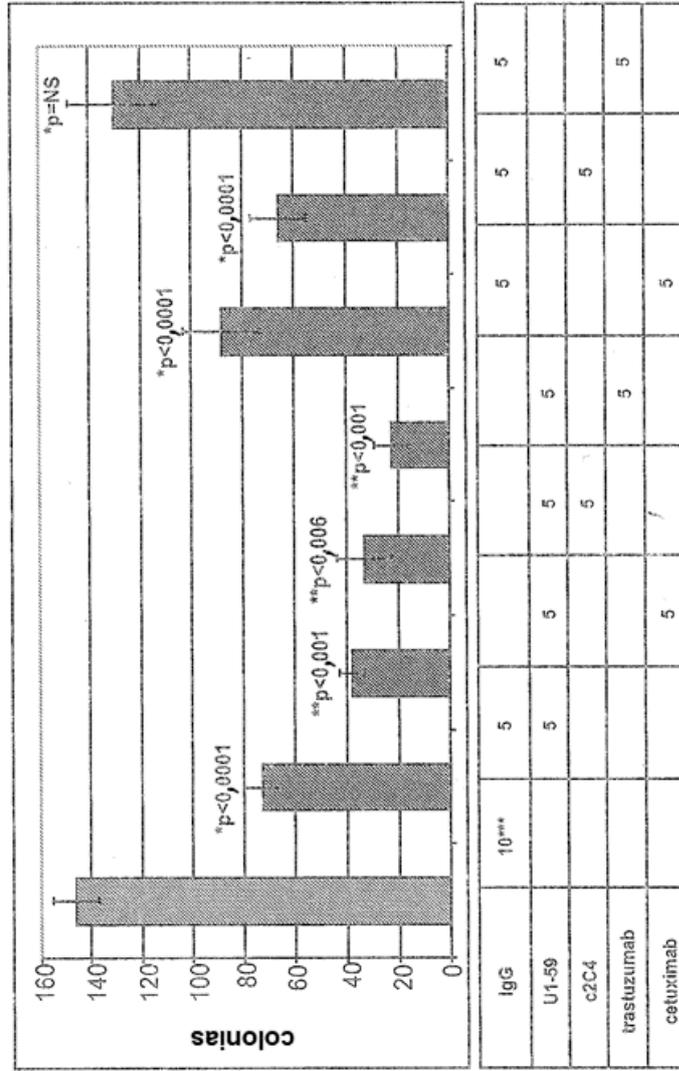
100 ug U1-59 + erlotinib vehículo vs 100 ug U1-59 + 25 mg/kg erlotinib p = 0,0376
25 mg/kg erlotinib + 100 ug IgG1 vs 100 U1-59 + 25 mg/kg erlotinib p = 0,0514

Figura 3



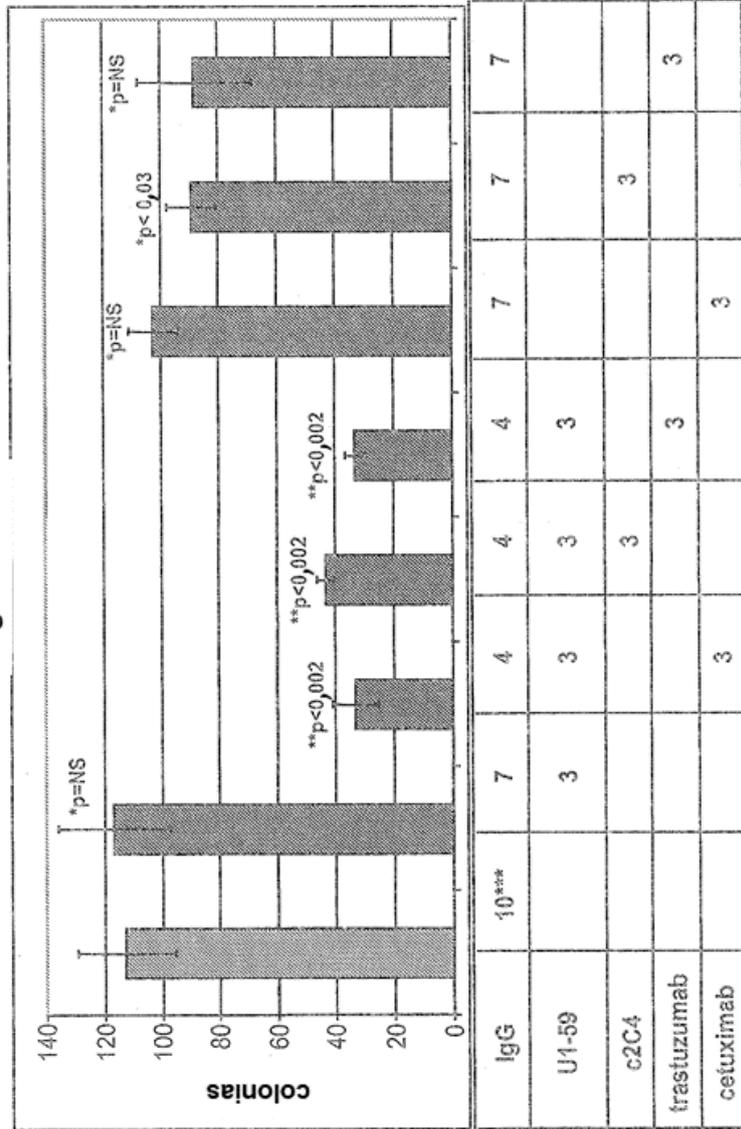
* = frente al tratamiento de control
 ** = frente a cualquier agente en solitario
 NS = no significativo
 *** = µg/ml

Figura 4



* = frente al tratamiento de control
 ** = frente a cualquier agente en solitario
 NS = no significativo
 *** = µg/ml

Figura 5



* = frente al tratamiento de control
 ** = frente a cualquier agente en solitario
 NS = no significativo
 *** = µg/ml

Figura 6AB

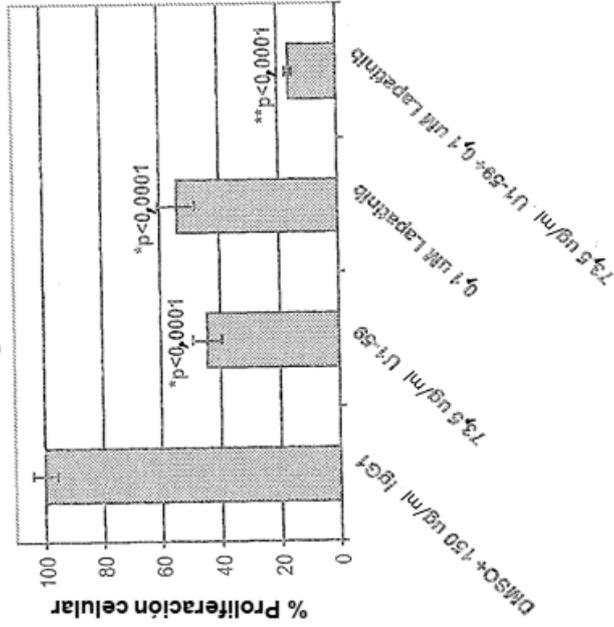
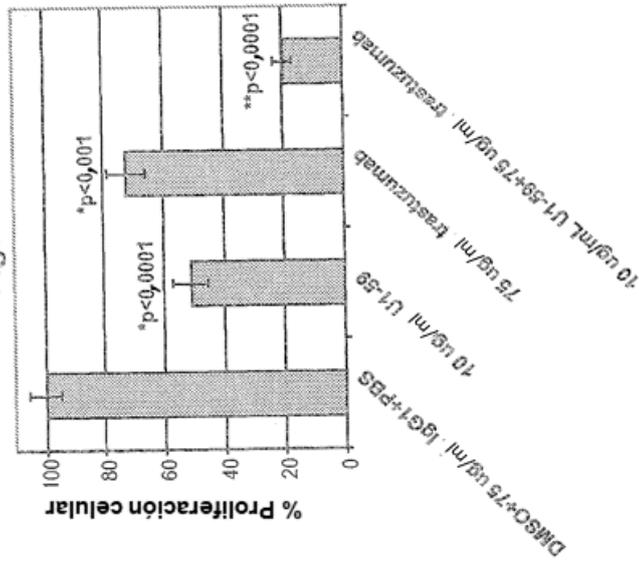


Figure 6A



* = frente al tratamiento de control
 **= frente a cualquier agente en solitario

Figura 6D

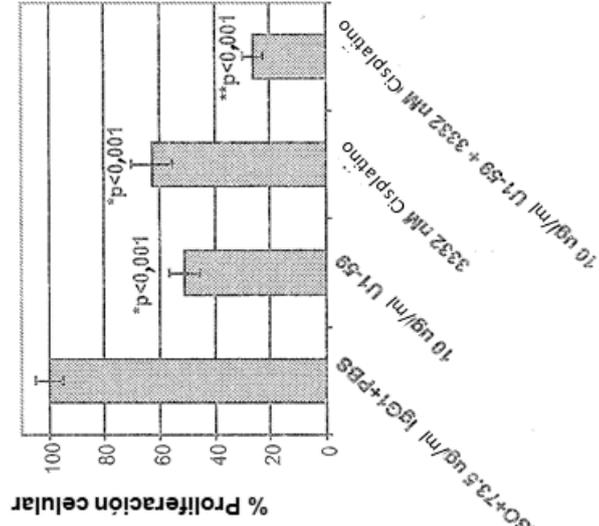
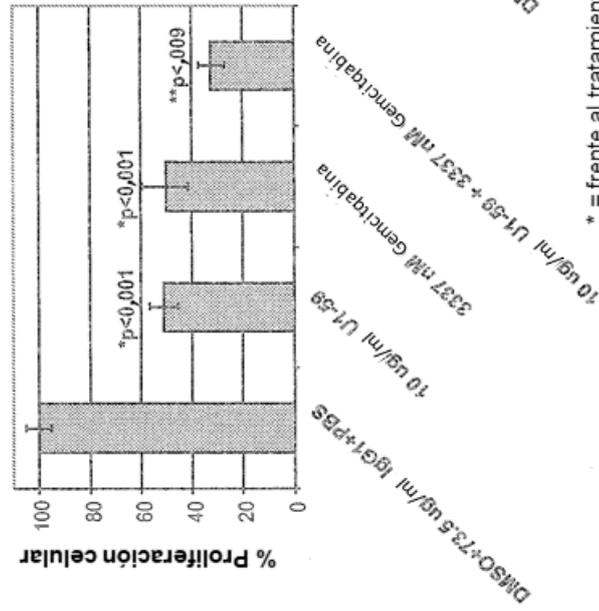
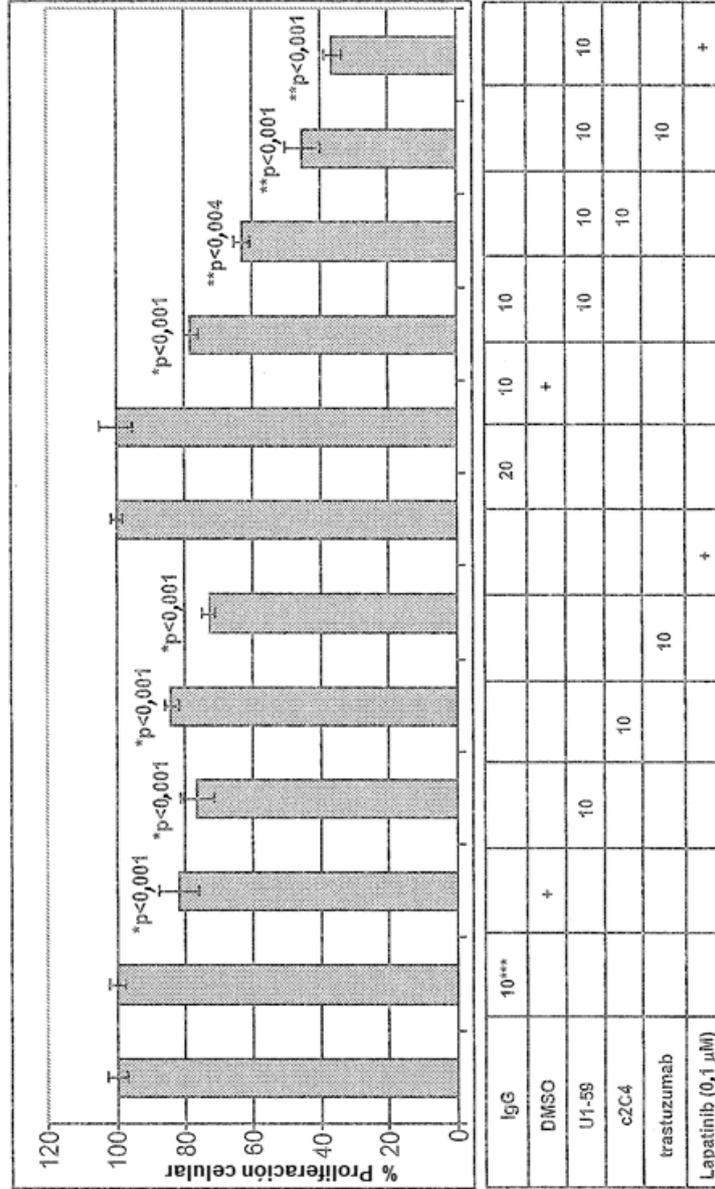


Figura 6C



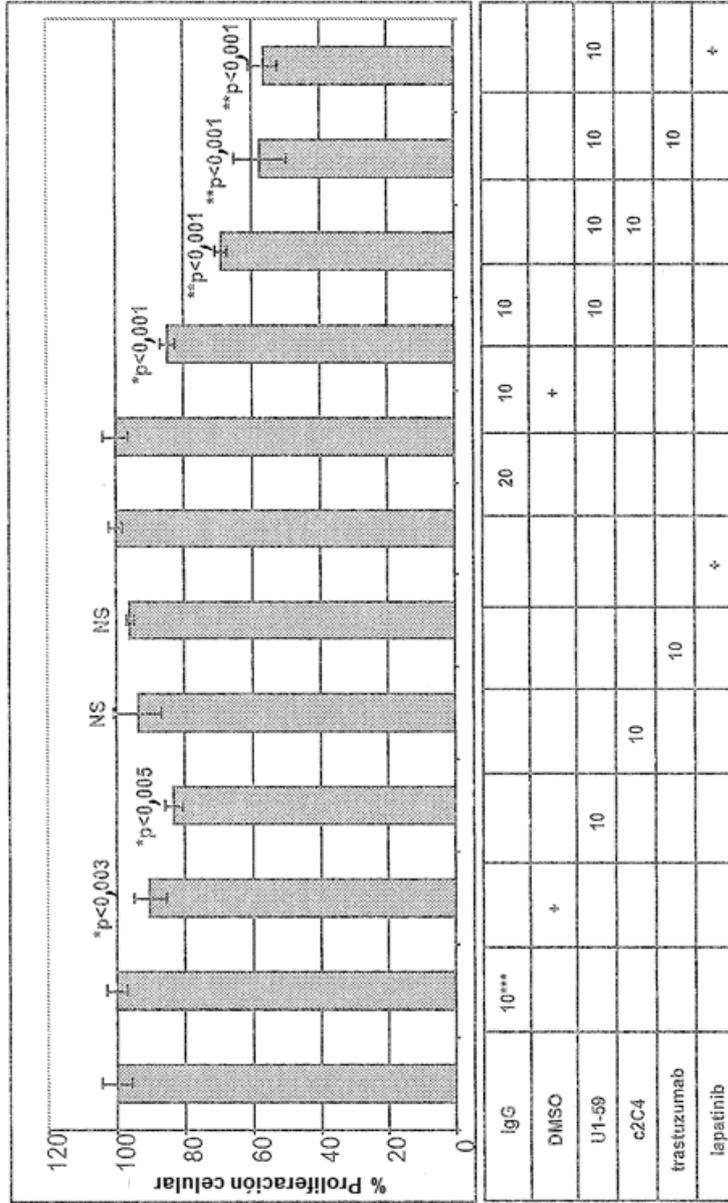
* = frente al tratamiento de control
 ** = frente a cualquier agente en solitario
 NS = no significativo

Figura 7



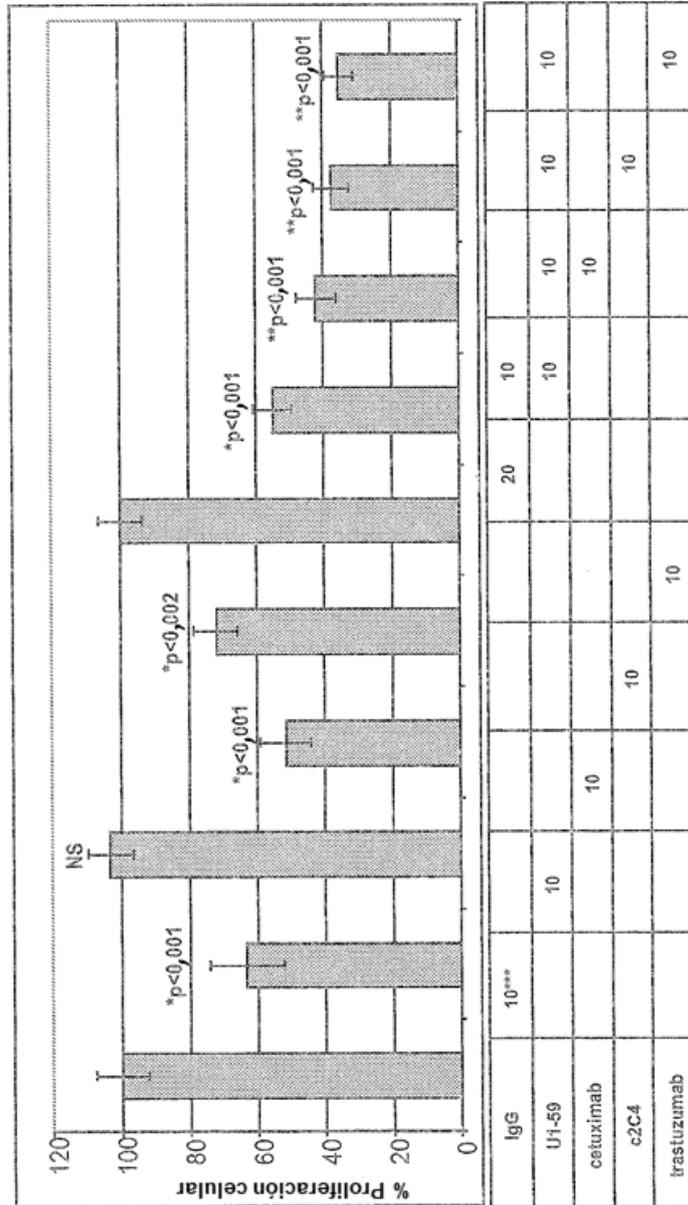
* = frente al tratamiento de control
 ** = frente a cualquier agente en solitario
 *** = µg/ml

Figura 8



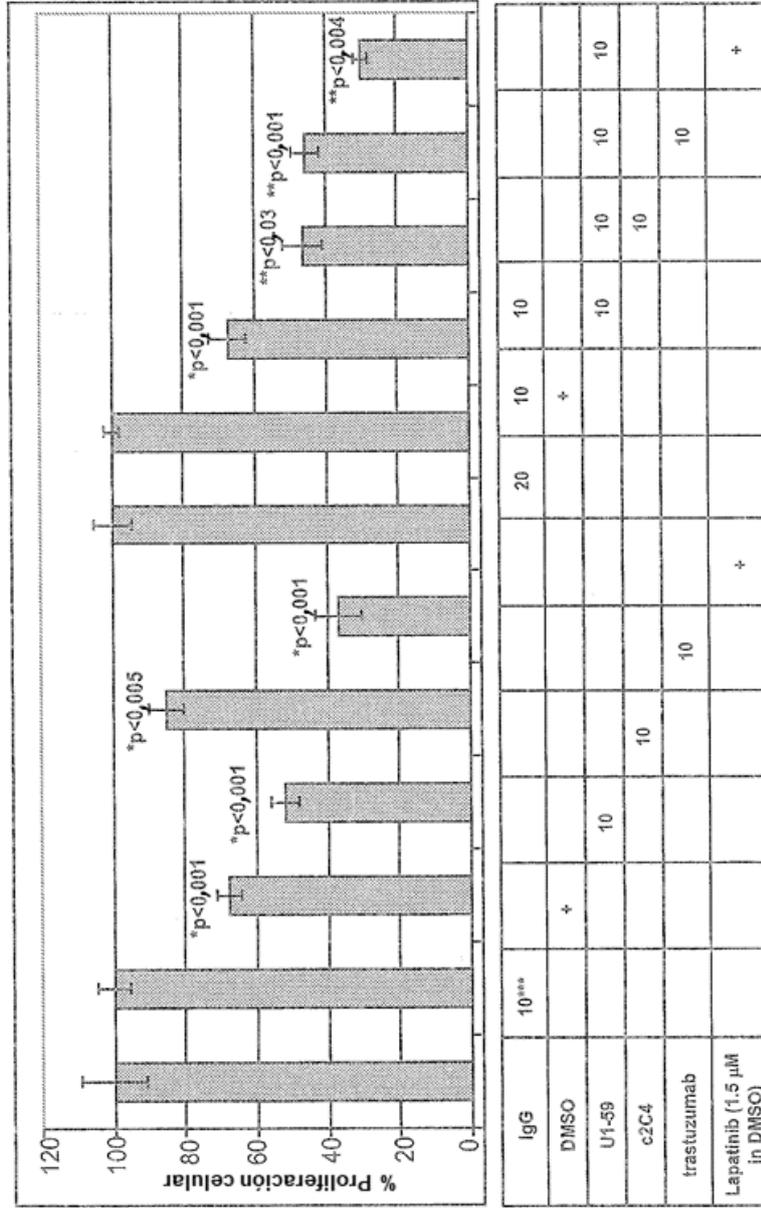
* = frente al tratamiento de control
 ** = frente a cualquier agente en solitario
 NS = no significativo
 *** = μg/ml

Figura 9



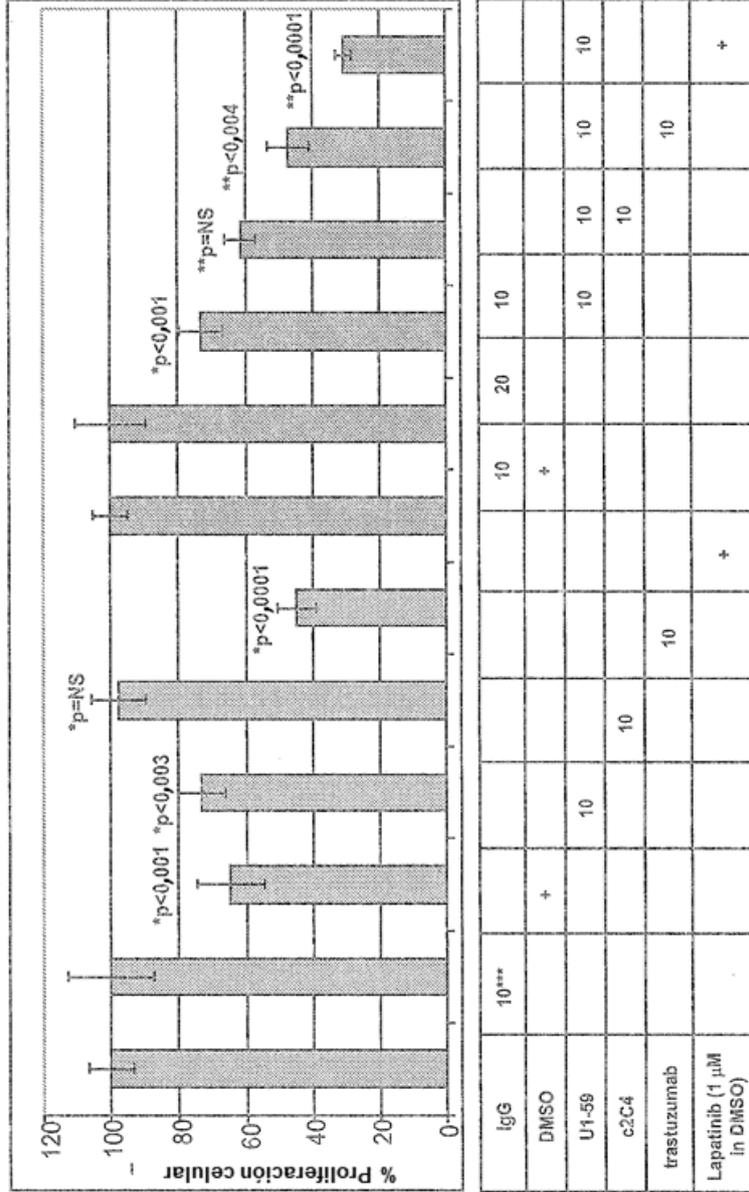
* = frente al tratamiento de control
 **= frente a cualquier agente en solitario
 NS = no significativo
 *** = µg/ml

Figura 10



* = frente al tratamiento de control
 ** = frente a cualquier agente en solitario
 NS = no significativo
 *** = μg/ml

Figura 11



* = frente al tratamiento de control
 ** = frente a cualquier agente en solitario
 NS = no significativo
 *** = µg/ml

Figura 12

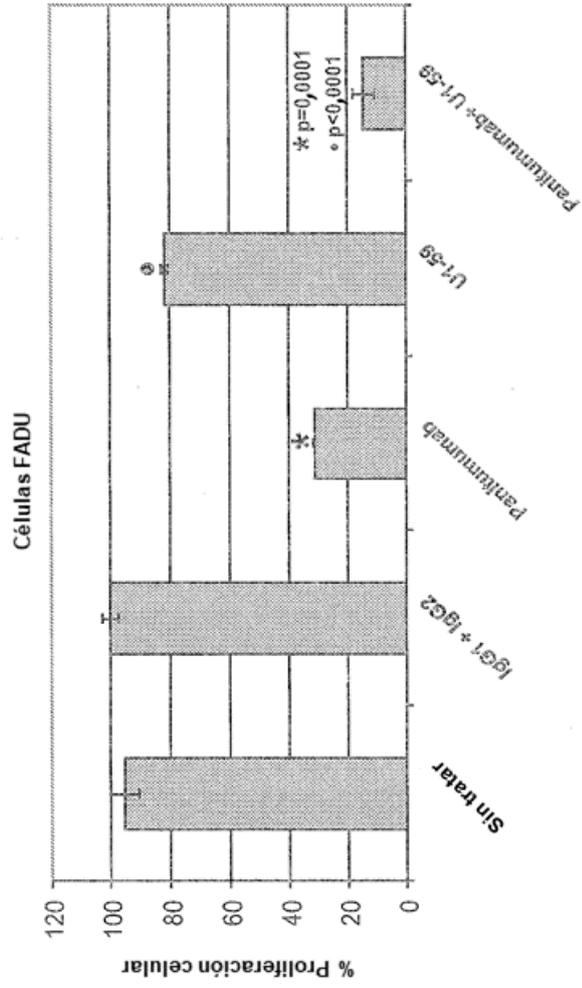


Figura 13

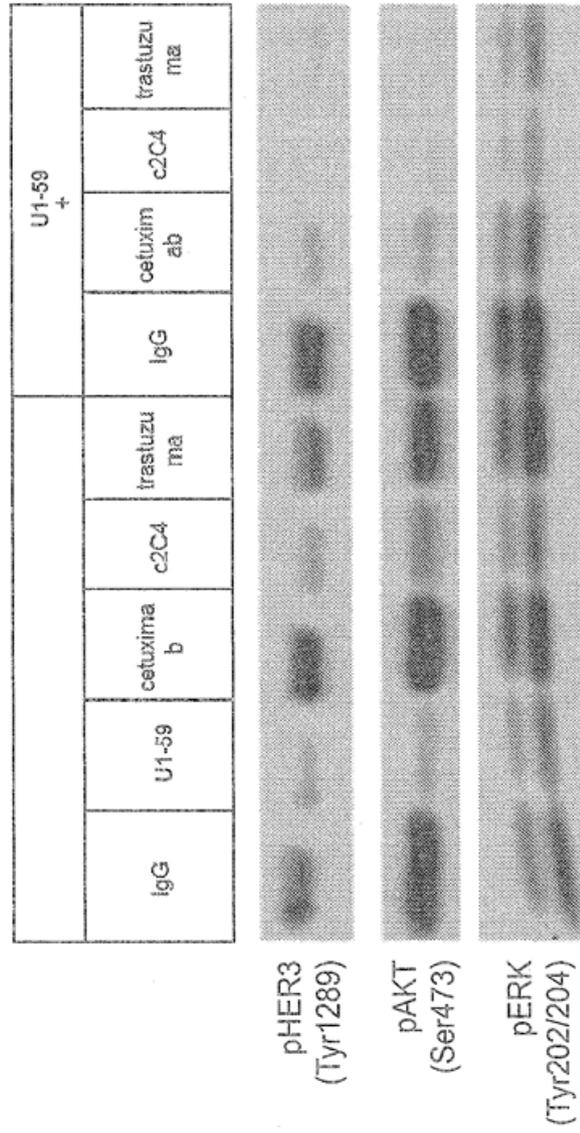


Figura 15

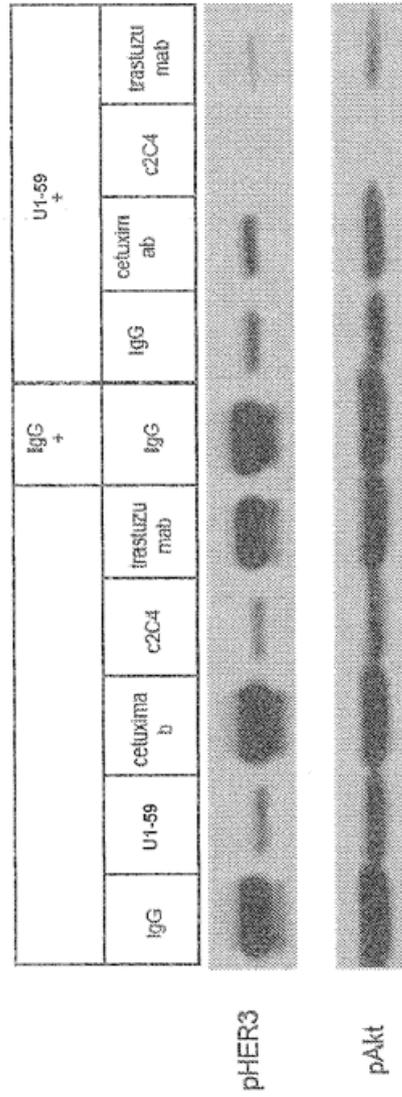


Figura 17

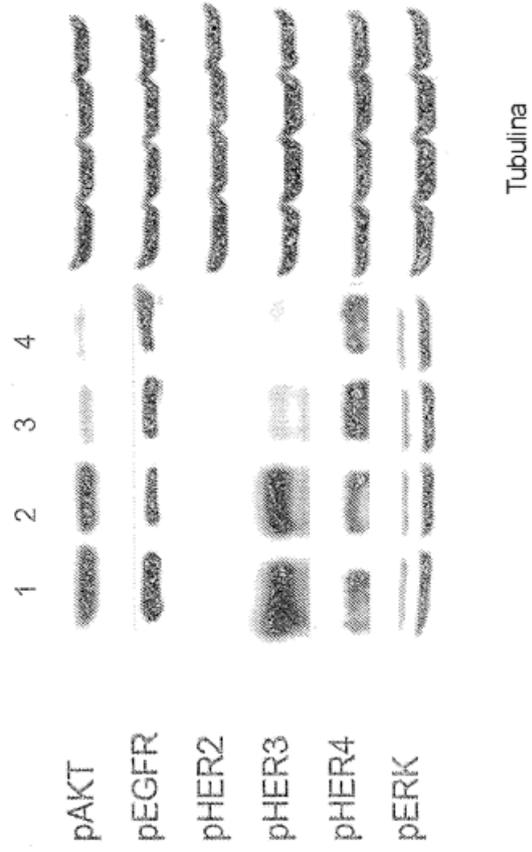


Figura 18

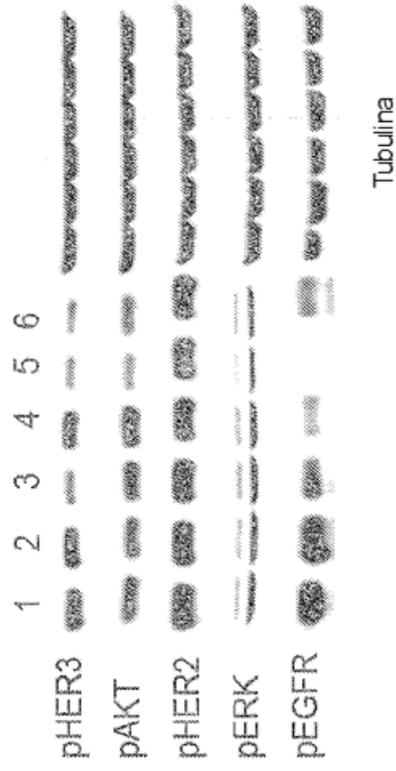


Figura 19

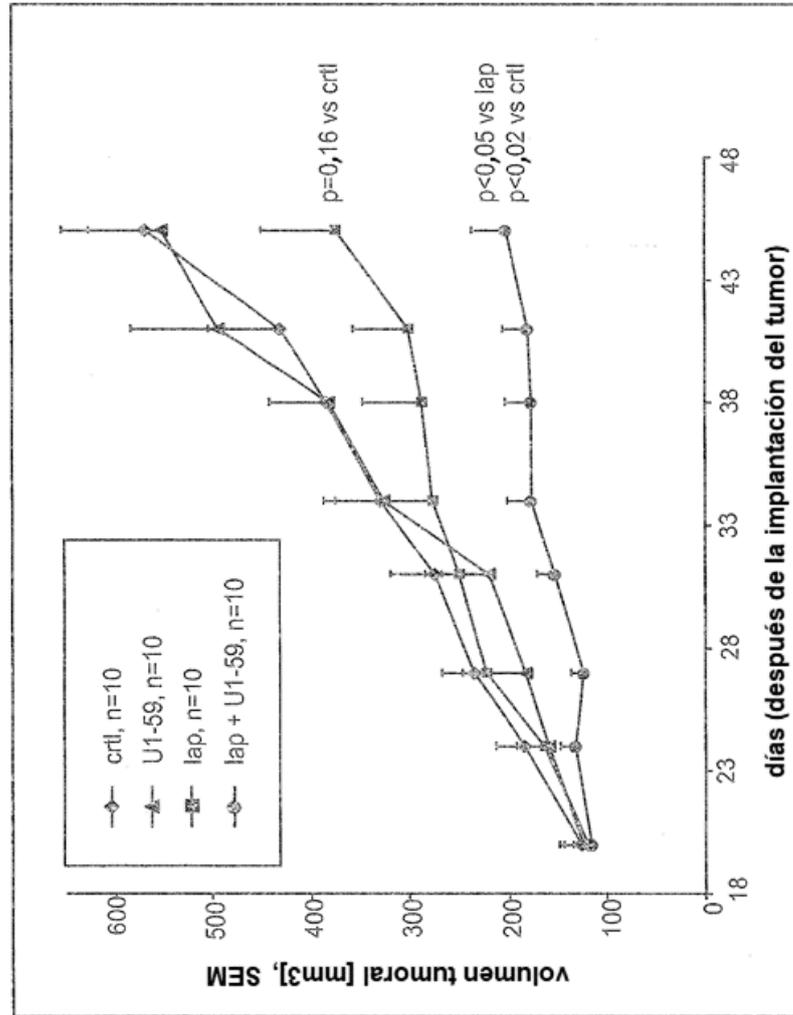


Figura 20

