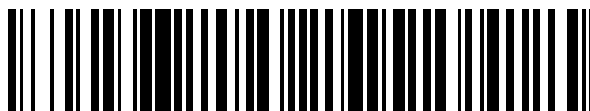


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 656 000**

51 Int. Cl.:

A61K 39/00 (2006.01)

C07K 16/18 (2006.01)

C07K 16/26 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **07.06.2011** **PCT/US2011/039381**

87 Fecha y número de publicación internacional: **15.12.2011** **WO11156324**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.06.2011** **E 11792989 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.11.2017** **EP 2579894**

54 Título: **Anticuerpos frente a CGRP**

30 Prioridad:

10.06.2010 US 353323 P

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

22.02.2018

73 Titular/es:

ELI LILLY AND COMPANY (100.0%)
Lilly Corporate Center
Indianapolis, IN 46285, US

72 Inventor/es:

ALLAN, BARRETT;
BENSCHOP, ROBERT JAN;
CHAMBERS, MARK GEOFFREY y
DARLING, RYAN JAMES

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 656 000 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

Anticuerpos frente a CGRP

La presente invención se encuentra dentro del campo de la medicina, en particular en el campo de los anticuerpos frente al péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP, forma siglada de *calcitonin gene-related peptide*).
 5 Más en concreto, la invención se refiere a anticuerpos frente al CGRP y el uso de los anticuerpos frente al CGRP para la terapia de las jaquecas.

El péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP) es un neuropéptido de 37 aminoácidos que secretan los nervios de los sistemas nerviosos central y periférico. El CGRP está distribuido de forma general en los nervios sensitivos, tanto en el sistema nervioso periférico como el central, y presenta un gran número de distintas actividades biológicas. Se ha informado que el CGRP desempeña un papel. Cuando se libera en el nervio trigémino y otras fibras nerviosas, se cree que el CGRP media sus respuestas biológicas mediante la unión a receptores de la superficie celular específicos.

Se ha informado que el CGRP desempeña un papel en las jaquecas, dado que el CGRP se libera tras la estimulación de los nervios sensitivos y tiene una potente actividad vasodilatadora. La liberación de CGRP aumenta la permeabilidad vascular y la posterior filtración de proteínas plasmáticas (extravasación de proteínas plasmáticas) en los tejidos inervados por el nervio trigémino tras la estimulación de esta fibra. Además, los estudios han informado que la infusión de CGRP en pacientes que padecen jaquecas ha dado como resultado síntomas similares a la jaqueca.

También se ha informado que el CGRP desempeña un papel en la osteoartritis (OA). La OA es una afección crónica que afecta a un gran porcentaje de personas en todo el mundo. El dolor en la artritis se caracteriza por hiperalgesia (sensibilidad excesiva a los estímulos normalmente no nocivos) y dolor espontáneo (dolor en reposo). La inflamación de las articulaciones provoca sensibilización periférica y central. En la sensibilización periférica, los nociceptores que contienen CGRP de alto umbral normalmente comienzan a responder a la presión ligera asociada con el movimiento articular normal. El CGRP actúa como un mediador local de procesos inflamatorios. Este proceso continuado finalmente conduce a la sensibilización central en la médula espinal, de forma que las neuronas se hacen sensibles a la estimulación del tejido inflamado así como del no inflamado. En modelos preclínicos de dolor en la OA en ratas se observó un aumento de la cantidad de fibras nerviosas positivas para CGRP, lo que se correlaciona de forma positiva con la cantidad de dolor.

El tratamiento habitual actual para el dolor en la OA consiste en fármacos antiinflamatorios no esteroideos (los AINE) e inhibidores selectivos de Cox-2. Con el tiempo muchos pacientes se harán insensibles a estos tratamientos o no serán capaces de tolerar las altas dosis necesarias para un alivio eficaz del dolor. Los tratamientos de seguimiento consisten en inyecciones intrarticulares (hialuronano) u opiáceos. El tratamiento final es el reemplazo quirúrgico completo de la articulación. Muchos de estos tratamientos tienen efectos secundarios negativos, que varían de gastrointestinales (los AINE) a cardiovasculares (inhibidores de Cox-2), son engorrosos y/o no muy eficaces (inyecciones intrarticulares), conllevan el riesgo de adicción (opiáceos) o se restringen a solo una articulación (inyecciones intrarticulares, cirugía).

Aunque se han desvelado anticuerpos frente al CGRP para el tratamiento de las jaquecas y para el tratamiento del dolor inflamatorio (jaquecas - documento WO 2007/076336 y documento WO 2007/054809; OA - véase, anticuerpo G1 del documento WO2009/109908A1), sigue habiendo una necesidad de alternativas. Preferentemente, el tratamiento alternativo debe ser seguro y eficaz. Más preferentemente, el tratamiento alternativo para la OA proporcionará un alivio duradero del dolor en múltiples articulaciones, que sea tolerable para los pacientes sin el riesgo de dependencia y/o abuso.

La presente invención proporciona un anticuerpo frente a CGRP humano técnicamente diseñado que comprende una región variable de la cadena ligera (LCVR) y una región variable de la cadena pesada (HCVR), en el que dicha LCVR comprende las secuencias de aminoácidos de LCDR1, LCDR2 y LCDR3, y la HCVR comprende las secuencias de aminoácidos de HCDR1, HCDR2 y HCDR3, en la que LCDR1 es RASKDISKYLN (SEQ ID NO: 6), LCDR2 es YTSGYHS (SEQ ID NO: 7), LCDR3 es QQGDALPPT (SEQ ID NO: 5), HCDR1 es GYTFGNYWMQ (SEQ ID NO: 12), HCDR2 es AIYEGTGKTVYIQKFAD (SEQ ID NO: 16) y HCDR3 es LSDYVSGFGY (SEQ ID NO: 39).

En el presente documento se desvela un anticuerpo frente a CGRP humano técnicamente diseñado que comprende una región variable de la cadena ligera (LCVR) y una región variable de la cadena pesada (HCVR), en la que dicha LCVR comprende las secuencias de aminoácidos de LCDR1, LCDR2 y LCDR3, y la HCVR comprende las secuencias de aminoácidos de HCDR1, HCDR2 y HCDR3, que se seleccionan del grupo que consiste en:

a) LCDR1 es RASQDIDNYLN (SEQ ID NO: 3), LCDR2 es YTSEYHS (SEQ ID NO: 4), LCDR3 es QQGDALPPT (SEQ ID NO: 5), HCDR1 es GYTFGNYWMQ (SEQ ID NO: 12), HCDR2 es AIYEGTGDTYIYQKFAG (SEQ ID NO: 13) y HCDR3 es LSDYVSGFSY (SEQ ID NO: 14);

b) LCDR1 es RASQDIDNYLN (SEQ ID NO: 3), LCDR2 es YTSEYHS (SEQ ID NO: 4), LCDR3 es QQGDALPPT (SEQ ID NO: 5), HCDR1 es GYTFGNYWMQ (SEQ ID NO: 12), HCDR2 es AIYEGTGKTVYIYQKFAG (SEQ ID NO: 13) y HCDR3 es LSDYVSGFSY (SEQ ID NO: 14);

15) y HCDR3 es LSDYVSGFSY (SEQ ID NO: 14);

c) LCDR1 es RASRPIDKYLN (SEQ ID NO: 8), LCDR2 es YTSEYHS (SEQ ID NO: 4), LCDR3 es QQGDALPPT (SEQ ID NO: 5), HCDR1 es GYTFGNYWMQ (SEQ ID NO: 12), HCDR2 es AIYEGTGKTVYIQKFAG (SEQ ID NO: 15), and HCDR3 es LSDYVSGFGY (SEQ ID NO: 39); y

5 d) LCDR1 es RASQDIDKYLN (SEQ ID NO: 9), LCDR2 es YTSGYHS (SEQ ID NO: 7), LCDR3 es QQGDALPPT (SEQ ID NO: 5), HCDR1 es GYTFGNYWMQ (SEQ ID NO: 12), HCDR2 es AIYEGTGKTVYIQKFAG (SEQ ID NO: 15) y HCDR3 es LSDYVSGFGY (SEQ ID NO: 39),

en el que el anticuerpo frente a CGRP humano técnicamente diseñado se une a un CGRP humano.

10 En el presente documento se desvela un anticuerpo frente a CGRP humano técnicamente diseñado que comprende una LCVR y una HCVR, en el que LCDR1 es la SEQ ID NO: 3, LCDR2 es la SEQ ID NO: 4, LCDR3 es la SEQ ID NO: 5, HCDR1 es la SEQ ID NO: 12, HCDR2 es la SEQ ID NO: 13 y HCDR3 es la SEQ ID NO: 14, en el que el anticuerpo frente a CGRP humano técnicamente diseñado se une al CGRP humano. En el presente documento se desvela un anticuerpo frente a CGRP humano técnicamente diseñado o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende una LCVR y una HCVR, en el que LCDR1 es la SEQ ID NO: 3, LCDR2 es la SEQ ID NO: 4, LCDR3 es la SEQ ID NO: 5, HCDR1 es la SEQ ID NO: 12, HCDR2 es la SEQ ID NO: 15 y HCDR3 es la SEQ ID NO: 14, en el que el anticuerpo frente a CGRP humano técnicamente diseñado se une al CGRP humano. La presente invención proporciona un anticuerpo frente a CGRP humano técnicamente diseñado que comprende una LCVR y una HCVR, en el que LCDR1 es la SEQ ID NO: 6, LCDR2 es la SEQ ID NO: 7, LCDR3 es la SEQ ID NO: 5, HCDR1 es la SEQ ID NO: 12, HCDR2 es la SEQ ID NO: 16 y HCDR3 es la SEQ ID NO: 39, en el que el anticuerpo frente a CGRP humano técnicamente diseñado se une al CGRP humano. En el presente documento se desvela un anticuerpo frente a CGRP humano técnicamente diseñado que comprende una LCVR y una HCVR, en el que LCDR1 es la SEQ ID NO: 8, LCDR2 es la SEQ ID NO: 4, LCDR3 es la SEQ ID NO: 5, HCDR1 es la SEQ ID NO: 12, HCDR2 es la SEQ ID NO: 15 y HCDR3 es la SEQ ID NO: 39, en el que el anticuerpo frente a CGRP humano técnicamente diseñado se une al CGRP humano. En el presente documento se desvela un anticuerpo frente a CGRP humano técnicamente diseñado que comprende una LCVR y una HCVR, en el que LCDR1 es la SEQ ID NO: 9, LCDR2 es la SEQ ID NO: 7, LCDR3 es la SEQ ID NO: 5, HCDR1 es la SEQ ID NO: 12, HCDR2 es la SEQ ID NO: 15 y HCDR3 es la SEQ ID NO: 39, en el que el anticuerpo frente a CGRP humano técnicamente diseñado se une al CGRP humano.

30 En el presente documento se desvela un anticuerpo frente a CGRP humano técnicamente diseñado que comprende una LCVR y una HCVR, en el que LCDR1 es RASX₁X₂IX₃X₄YLN (SEQ ID NO: 10), LCDR2 es YTSX₅YHS (SEQ ID NO: 11), LCDR3 es QQGDALPPT (SEQ ID NO: 5) y HCDR1 es GYTFGNYWMQ (SEQ ID NO: 12), HCDR2 es AIYEGTGX₆TX₇YIQKFAX₈ (SEQ ID NO: 37) y HCDR3 es LSDYVSGFX₉Y (SEQ ID NO: 38), en las que X₁ es Q, R, o K; X₂ es D o P, X₃ es D o S, X₄ es N o K, X₅ es G o E, X₆ es K o D, X₇ es V o R, X₈ es D o G, y X₉ es G o S, en el que el anticuerpo se une al CGRP humano.

35 Adicionalmente en el presente documento se desvela un anticuerpo frente a CGRP humano técnicamente diseñado que comprende una región variable de la cadena ligera (LCVR) y una región variable de la cadena pesada (HCVR), en el que la LCVR comprende

40 DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASX₁X₂IX₃X₄YLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSX₅
YHSGVPSRFSGSGSGTDFTX₆TISSLQPEDX₇ATYYCQQGDALPPTFGX₈GTKX₉EIK en la que X₁ es Q, K o R; X₂ es D o P; X₃ es D o S; X₄ es K o N; X₅ es E o G; X₆ es F o L; X₇ es I o F; X₈ es Q o G, y X₉ es L o V. (SEQ ID NO: 42)

y la HCVR comprende

45 QVQLVQSGAEVKKPGX₁SVKVSCKASGYTFGNYWMQWVRQAPGQGLEWMGAI
YEGTGX₂TX₃YIQKFAX₄RVTX₅TX₆DX₇STSTX₈YMESSLRSEDYAVYYCARLSDY
VSGFX₉YWGQGTGX₁₀VTVSS, en la que X₁=A o S; X₂=K o D; X₃=V o R; X₄=G o D; X₅=M o I; X₆=R o A; X₇=T o K; X₈=V o A; X₉=G o S, y X₁₀=L o T. (SEQ ID NO: 43), en el que el anticuerpo se une al CGRP humano.

50 En otra realización, la presente invención proporciona un anticuerpo frente a CGRP humano técnicamente diseñado que comprende una región variable de la cadena ligera (LCVR) y una región variable de la cadena pesada (HCVR), en el que dicha secuencia de aminoácidos de LCVR es la SEQ ID NO: 19 y dicha secuencia de aminoácidos de HCVR es la SEQ ID NO: 24

En el presente documento se desvela un anticuerpo frente a CGRP humano técnicamente diseñado que comprende una región variable de la cadena ligera (LCVR) y una región variable de la cadena pesada (HCVR), en el que LCVR y HCVR son secuencias de aminoácidos seleccionadas del grupo que consiste en:

55 a. LCVR es la SEQ ID NO: 17 y HCVR es la SEQ ID NO: 22;
b. LCVR es la SEQ ID NO: 18 y HCVR es la SEQ ID NO: 23;
c. LCVR es la SEQ ID NO: 20 y HCVR es la SEQ ID NO: 25 y
d. LCVR es la SEQ ID NO: 21 y HCVR es la SEQ ID NO: 26.

- En el presente documento se desvela un anticuerpo frente a CGRP humano técnicamente diseñado que comprende una LCVR de la SEQ ID NO: 17 y una HCVR de la SEQ ID NO: 22. Adicionalmente se desvela en el presente documento un anticuerpo frente a CGRP humano técnicamente diseñado que comprende una LCVR de la SEQ ID NO: 18 y una HCVR de la SEQ ID NO: 23. La presente invención proporciona un anticuerpo frente a CGRP humano
- 5 técnicamente diseñado que comprende una LCVR de la SEQ ID NO: 19 y una HCVR de la SEQ ID NO: 24. Adicionalmente se desvela en el presente documento un anticuerpo frente a CGRP humano técnicamente diseñado que comprende una LCVR de la SEQ ID NO: 20 y una HCVR de la SEQ ID NO: 25. Adicionalmente se desvela en el presente documento un anticuerpo frente a CGRP humano técnicamente diseñado que comprende una LCVR de la SEQ ID NO: 21 y una HCVR de la SEQ ID NO: 26.
- 10 La presente invención también proporciona un anticuerpo frente a CGRP humano técnicamente diseñado que comprende una cadena ligera (LC) y una cadena pesada (HC), en el que la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera es la SEQ ID NO: 29 y la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada es la SEQ ID NO: 34.
- En el presente documento se desvela un anticuerpo frente a CGRP humano técnicamente diseñado que comprende una cadena ligera (LC) y una cadena pesada (HC), en el que las secuencias de aminoácidos de la LC y la HC se
- 15 seleccionan del grupo que consiste en:
- a) LC es la SEQ ID NO: 27 and HC es la SEQ ID NO: 32;
 - b) LC es la SEQ ID NO: 28 and HC es la SEQ ID NO: 33;
 - c) LC es la SEQ ID NO: 30 and HC es la SEQ ID NO: 35 y
 - d) LC es la SEQ ID NO: 31 and HC es la SEQ ID NO: 36.
- 20 En el presente documento se desvela un anticuerpo frente a CGRP humano técnicamente diseñado que comprende una LC de la SEQ ID NO: 27 y una HC de la SEQ ID NO: 32. Adicionalmente en el presente documento se desvela un anticuerpo frente a CGRP humano técnicamente diseñado que comprende una LC de la SEQ ID NO: 28 y una HC de la SEQ ID NO: 33. En una realización, el anticuerpo frente a CGRP humano técnicamente diseñado comprende una LC de la SEQ ID NO: 29 y una HC de la SEQ ID NO: 34. Adicionalmente en el presente documento
- 25 se desvela un anticuerpo frente a CGRP humano técnicamente diseñado que comprende una LC de la SEQ ID NO: 30 y una HC de la SEQ ID NO: 35. Adicionalmente en el presente documento se desvela un anticuerpo frente a CGRP humano técnicamente diseñado que comprende una LC de la SEQ ID NO: 31 y una HC de la SEQ ID NO: 36. Aún adicionalmente en el presente documento se desvela un anticuerpo frente a CGRP humano técnicamente diseñado que comprende dos cadenas ligeras y dos cadenas pesadas en las que cada secuencia de aminoácidos
- 30 de LC es la SEQ ID NO: 27 y cada secuencia de aminoácidos de HC es la SEQ ID NO: 32. Aún adicionalmente en el presente documento se desvela un anticuerpo frente a CGRP humano técnicamente diseñado que comprende dos cadenas ligeras y dos cadenas pesadas en las que cada secuencia de aminoácidos de la LC es la SEQ ID NO: 28 y cada secuencia de aminoácidos de la HC es la SEQ ID NO: 33. En una realización, el anticuerpo frente a CGRP humano técnicamente diseñado comprende dos cadenas ligeras y dos cadenas pesadas, en las que cada secuencia
- 35 de aminoácidos de LC es la SEQ ID NO: 29 y cada secuencia de aminoácidos de HC es la SEQ ID NO: 34. Aún adicionalmente en el presente documento se desvela un anticuerpo frente a CGRP humano técnicamente diseñado que comprende dos cadenas ligeras y dos cadenas pesadas, en la que la secuencia de aminoácidos de LC es la SEQ ID NO: 30 y cada secuencia de aminoácidos de HC es la SEQ ID NO: 35. Aún adicionalmente en el presente documento se desvela un anticuerpo frente a CGRP humano técnicamente diseñado que comprende dos cadenas ligeras y dos cadenas pesadas, en la que cada secuencia de aminoácidos de LC es la SEQ ID NO: 31 y cada secuencia de aminoácidos de HC es la SEQ ID NO: 36. La presente invención también proporciona fragmentos de un antígeno de los anticuerpos descritos en el presente documento.
- La presente invención también proporciona anticuerpos frente a CGRP humanos técnicamente diseñados que tienen una $CI_{50} < 1,0$ nM en un ensayo esencialmente como se describe en el Ejemplo 4. En una realización, la presente
- 45 invención proporciona un anticuerpo frente a CGRP humano técnicamente diseñado que comprende una LCVR y una HCVR, en el que LCDR1 es la SEQ ID NO: 6, LCDR2 es la SEQ ID NO: 7, LCDR3 es la SEQ ID NO: 5, HCDR1 es la SEQ ID NO: 12, HCDR2 es la SEQ ID NO: 16 y HCDR3 es la SEQ ID NO: 39, y en el que el anticuerpo frente a CGRP humano técnicamente diseñado se une al CGRP humano y además tiene una $CI_{50} < 1,0$ nM en un ensayo que es esencialmente como se describe en el Ejemplo 4. En una realización, la presente invención proporciona un
- 50 anticuerpo frente a CGRP humano técnicamente diseñado que comprende una secuencia de aminoácidos de LCVR de la SEQ ID NO: 19 y una secuencia de aminoácidos de HCVR de la SEQ ID NO: 24, en el que el anticuerpo frente a CGRP humano técnicamente diseñado tiene una $CI_{50} < 1,0$ nM en un ensayo esencialmente como se describe en el Ejemplo 4. En una realización, la presente invención proporciona un anticuerpo frente a CGRP humano técnicamente diseñado que comprende una secuencia de aminoácidos de LC de la SEQ ID NO: 29 y una secuencia
- 55 de aminoácidos de HC de la SEQ ID NO: 34, en el que el anticuerpo frente a CGRP humano técnicamente diseñado tiene una $CI_{50} < 1,0$ nM en un ensayo esencialmente como se describe en el Ejemplo 4.
- La presente invención también proporciona anticuerpos frente a CGRP humanos técnicamente diseñados que tienen una $CI_{50} < 0,5$ nM en un ensayo esencialmente como se describe en el Ejemplo 4. En una realización, la presente invención proporciona un anticuerpo frente a CGRP humano técnicamente diseñado que comprende una LCVR y
- 60 una HCVR, en el que LCDR1 es la SEQ ID NO: 6, LCDR2 es la SEQ ID NO: 7, LCDR3 es la SEQ ID NO: 5, HCDR1 es la SEQ ID NO: 12, HCDR2 es la SEQ ID NO: 16 y HCDR3 es la SEQ ID NO: 39, y en el que el anticuerpo frente a

CGRP humano técnicamente diseñado se une al CGRP humano y además tiene una $CI_{50} < 0,5$ nM en un ensayo esencialmente como se describe en el Ejemplo 4. En una realización, la presente invención proporciona un anticuerpo frente a CGRP humano técnicamente diseñado que comprende una secuencia de aminoácidos de LCVR de la SEQ ID NO: 19 y una secuencia de aminoácidos de HCVR de la SEQ ID NO: 24, en el que el anticuerpo frente a CGRP humano técnicamente diseñado tiene una $CI_{50} < 0,5$ nM en un ensayo esencialmente como se describe en el Ejemplo 4. En una realización, la presente invención proporciona un anticuerpo frente a CGRP humano técnicamente diseñado que comprende una secuencia de aminoácidos de LC de la SEQ ID NO: 29 y una secuencia de aminoácidos de HC de la SEQ ID NO: 34, en el que el anticuerpo frente a CGRP humano técnicamente diseñado tiene una $CI_{50} < 0,5$ nM en un ensayo esencialmente como se describe en el Ejemplo 4.

La presente invención también proporciona una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo frente a CGRP humano técnicamente diseñado o fragmento de unión a antígeno del mismo de la presente invención, y un transportador, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable. La presente invención proporciona adicionalmente una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo frente a CGRP de la presente invención junto con un transportador farmacéuticamente aceptable y, de forma opcional, otros ingredientes terapéuticos.

En el presente documento se desvela un procedimiento para el tratamiento del dolor por osteoartritis que comprende administrar a un paciente que lo necesite un anticuerpo frente a CGRP humano técnicamente diseñado o fragmento de unión a antígeno del mismo de la presente invención. En el presente documento se desvela adicionalmente un procedimiento para el tratamiento de las jaquecas que comprende administrar a un paciente que lo necesite un anticuerpo frente a CGRP humano técnicamente diseñado o fragmento de unión a antígeno del mismo de la presente invención.

La presente invención también proporciona un anticuerpo frente a CGRP humano técnicamente diseñado o fragmento de unión a antígeno del mismo de la presente invención para su uso en terapia. En el presente documento se desvela un anticuerpo frente a CGRP humano técnicamente diseñado o fragmento de unión a antígeno del mismo de la presente invención, para el tratamiento del dolor por osteoartritis. En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un anticuerpo frente a CGRP humano técnicamente diseñado o fragmento de unión a antígeno del mismo de la presente invención para el tratamiento de las jaquecas.

En el presente documento se desvela el uso de un anticuerpo frente a CGRP humano técnicamente diseñado o fragmento de unión a antígeno del mismo de la presente invención, para su uso del tratamiento del dolor por osteoartritis. En el presente documento se desvela adicionalmente el uso de un anticuerpo frente a CGRP humano técnicamente diseñado o fragmento de unión a antígeno del mismo de la presente invención, para su uso en tratamiento de las jaquecas. En el presente documento se desvela adicionalmente el uso de un anticuerpo frente a CGRP humano técnicamente diseñado o fragmento de unión a antígeno del mismo en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de la osteoartritis. En el presente documento se desvela adicionalmente el uso de un anticuerpo frente a CGRP humano técnicamente diseñado o fragmento de unión a antígeno del mismo en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de las jaquecas.

Un anticuerpo de longitud completa tal como existe de forma natural es una molécula de inmunoglobulina que comprende 2 cadenas pesadas (H) y 2 cadenas ligeras (L) interconectadas mediante enlaces disulfuro. La porción amino terminal de cada cadena incluye una región variable de aproximadamente 100-110 aminoácidos principalmente responsable del reconocimiento del antígeno a través de las regiones determinantes de complementariedad (las CDR) contenidas en ella. La porción carboxilo terminal de cada cadena define una región constante principalmente responsable de la función efectora.

Las CDR están intercaladas con regiones que están más conservadas, denominadas regiones marco conservadas (FR). Cada región variable de la cadena ligera (LCVR) y región variable de la cadena pesada (HCVR) consta de 3 CDR y 4 FR, dispuestas desde el extremo amino al extremo carboxilo en el siguiente orden: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. Las 3 CDR de la cadena ligera se denominan "LCDR1, LCDR2 y LCDR3" y las 3 CDR de la cadena pesada se denominan "HCDR1, HCDR2 y HCDR3". Las CDR contienen la mayoría de los restos que forman interacciones específicas con el antígeno. La numeración y ubicación de los restos de aminoácido de la CDR dentro de las regiones LCVR y HCVR están en conformidad con la bien conocida convención de la numeración de Kabat.

Las cadenas ligeras se clasifican como kappa y lambda, y se caracterizan por una región constante particular como se conoce en la técnica. Las cadenas pesadas se clasifican como gamma, mu, alfa, delta o epsilon, y definen el isotipo de un anticuerpo como IgG, IgM, IgA, IgD o IgE, respectivamente. Los anticuerpos IgG pueden dividirse adicionalmente en subclases, por ejemplo, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4. Cada tipo de cadena pesada se caracteriza por una región constante particular con una secuencia bien conocida en la técnica.

Como se usa en el presente documento, la expresión "anticuerpo monoclonal" (Acm) se refiere a un anticuerpo que se obtiene a partir de una única copia o clon incluyendo, por ejemplo, cualquier clon eucariótico, procariótico o de fago, y no al procedimiento mediante el cual se produce. Los Acm de la presente invención preferentemente existen en una población homogénea o sustancialmente homogénea. Los Acm completos contienen 2 cadenas pesadas y 2

5 cadenas ligeras. Los “fragmentos de unión a antígeno” de tales anticuerpos monoclonales incluye, por ejemplo, fragmentos Fab, fragmentos Fab', fragmentos F(ab')₂ y fragmentos Fv monocatenarios. Los anticuerpos monoclonales y fragmento de unión a antígeno de los mismos de la presente invención pueden producirse, por ejemplo, mediante tecnologías recombinantes, tecnologías de presentación en fagos, tecnologías sintéticas, por ejemplo, injertado de CDR o combinaciones de otras tecnologías, u otras tecnologías conocidas en la técnica. Por ejemplo, pueden inmunizarse ratones con CGRP o fragmentos del mismo, los anticuerpos resultantes pueden recuperarse y purificarse, y puede evaluarse mediante los procedimientos desvelados en los Ejemplos a continuación la determinación de si poseen propiedades de unión y funcionales similares a o las mismas que los compuestos de anticuerpo desvelados en el presente documento. Los fragmentos de unión a antígeno también

10 pueden prepararse mediante procedimientos convencionales. Los procedimientos para producir y purificar anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno son bien conocidos en la técnica y pueden encontrarse, por ejemplo, en Harlow y Lane (1988) *Antibodies, A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, capítulo 5-8 y 15, ISBN 0-87969-314-2.

15 La frase “anticuerpos frente a CGRP humanos técnicamente diseñados” se refiere a anticuerpos monoclonales creados y/o manipulados para tener propiedades de unión y funcionales de acuerdo con la invención, se unen al CGRP humano y tienen regiones marco conservadas que son sustancialmente humanas o completamente humanas rodeando las CDR obtenidas de un anticuerpo no humano. Los “fragmentos de unión a antígeno” de tales anticuerpos humanos técnicamente diseñados incluyen, por ejemplo, fragmentos Fab, fragmentos Fab', fragmentos F(ab')₂ y fragmentos Fv monocatenarios. “Región marco conservada” o “secuencia marco conservada” se refiere a una cualquiera de las regiones marco conservadas 1 a 4. Los anticuerpos humanos técnicamente diseñados y los fragmentos de unión a antígeno de los mismos que abarca la presente invención incluyen moléculas en las que una o más de las regiones marco conservadas 1 a 4 son sustancialmente o completamente humanas, es decir, en las que está presente cualquiera de las posibles combinaciones de las regiones marco conservadas sustancialmente o completamente humanas 1 a 4 individuales. Por ejemplo, esto incluye moléculas en cuyas región marco conservada

20 1 y región marco conservada 2, región marco conservada 1 y región marco conservada 3, región marco conservada 1, 2 y 3, etcétera, son sustancialmente o completamente humanas. Las regiones marco conservadas sustancialmente humanas son las que tienen al menos el 80 % de identidad de secuencia con una secuencia de región marco conservada de estirpe germinal humana conocida. Preferentemente, los amazones sustancialmente humanos tienen al menos aproximadamente el 85 %, aproximadamente el 90 %, aproximadamente el 95 % o aproximadamente el 99 % de identidad de secuencia con una secuencia de armazón de estirpe germinal humana conocida.

Los amazones completamente humanos son los que son idénticos a una secuencia de armazón de estirpe germinal humana conocida. Las secuencias de estirpe germinal de armazón humana puedan tenerse de ImMunoGeneTics (IMGT) a través de su sitio en internet <http://imgt.cines.fr> o de The Immunoglobulin FactsBook por Marie-Paule Lefranc y Gerard Lefranc, Academic Press, 2001, ISBN 012441351. Por ejemplo, los amazones de la cadena ligera de la estirpe germinal pueden seleccionarse del grupo que consiste en: A11, A17, A18, A19, A20, A27, A30, L1, L11, L12, L2, L5, L15, L6, L8, O12, O2 y O8, y las regiones marco conservadas de la cadena pesada de la línea germinal pueden seleccionarse del grupo que consiste en: VH2-5, VH2-26, VH2-70, VH3-20, VH3-72, VHI-46, VH3-9, VH3-66, VH3-74, VH4-31, VHI-18, VHI-69, VI-13-7, VH3-11, VH3-15, VH3-21, VH3-23, VH3-30, VH3-48, VH4-39, VH4-59 y VH5-51.

Los anticuerpos humanos técnicamente diseñados además de los desvelados en el presente documento que presentan propiedades funcionales similares de acuerdo con la presente invención, pueden generarse usando varios procedimientos distintos. Los compuestos de anticuerpo específicos desvelados en el presente documento pueden usarse como moldes o compuestos de anticuerpo parentales para preparar compuestos de anticuerpo adicionales. En una estrategia, las CDR del compuesto de anticuerpo parental se injertan en un armazón humano que tiene una alta identidad de secuencia con el armazón del compuesto de anticuerpo parental. La identidad de secuencia del nuevo armazón en general será de al menos aproximadamente el 80 %, al menos aproximadamente el 85 %, al menos aproximadamente el 90 %, al menos aproximadamente el 95 % o al menos aproximadamente el 99 % idéntica a la secuencia del correspondiente armazón en el compuesto de anticuerpo parental. Este injertado puede dar como resultado una reducción de la afinidad de unión en comparación con la del anticuerpo parental. Si este es el caso, el armazón puede retromutarse en determinadas posiciones al armazón parental a base de los criterios concretos desvelados en Queen y col. (1991) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88:2869. Las referencias adicionales que describen procedimientos útiles en la humanización de anticuerpos de ratón incluyen las Patentes de Estados Unidos n.º 4.816.397; 5.225.539 y 5.693.761; los programas de ordenador ABMOD y ENCAD, como se describe en Levitt (1983) *J. Mol. Biol.* 168:595-620 y el procedimiento de Winter y colaboradores (Jones y col. (1986) *Nature* 321:522-525; Riechmann y col. (1988) *Nature* 332:323-327 y Verhoeven y col. (1988) *Science* 239:1534-1536.

La identificación de los restos a considerar para la retromutación puede llevarse a cabo de la siguiente manera:

Cuando un aminoácido está incluido en la siguiente categoría, el aminoácido de armazón de la secuencia de estirpe germinal humana que se está utilizando (el “armazón aceptador”) se reemplaza por un aminoácido de armazón de un armazón del compuesto de anticuerpo parental (el “armazón donante”).

(a) el aminoácido en la región marco conservada humana del armazón aceptador es inusual para los amazones

humanos en esta posición, mientras que el aminoácido correspondiente en la inmunoglobulina donante es típico para los armazones humanos en esa posición;

(b) la posición del aminoácido es inmediatamente adyacente a una de las CDR; o

5 (c) algún átomo de la cadena lateral de un aminoácido de armazón está dentro de aproximadamente los 5-6 angstroms (centro a centro) de algún átomo de un aminoácido de la CDR en un modelo de inmunoglobulina tridimensional.

10 Cuando cada uno de los aminoácidos en la región marco conservada humana del armazón aceptador y un correspondiente aminoácido en el armazón donante es en general inusual para los armazones humanos en esa posición, tal aminoácido puede reemplazarse por un aminoácido típico para los armazones humanos en esa posición. Este criterio de retromutación permite recuperar la actividad del compuesto de anticuerpo parental.

15 Otra estrategia para generar anticuerpos humanos técnicamente diseñados que presentan propiedades funcionales similares a los compuestos a anticuerpo desvelados en el presente documento, implica mutar de forma aleatoria aminoácidos dentro de las CDR injertadas sin cambiar el armazón y explorar la afinidad de unión y otras propiedades funcionales de las moléculas resultantes que son tan buenas o mejores que las de los compuestos de anticuerpo parental. También pueden introducirse mutaciones puntuales en cada posición de aminoácido dentro de cada CDR, seguido de la evaluación de los efectos de tales mutaciones sobre la afinidad de unión y otras propiedades funcionales. Las mutaciones puntuales que producen propiedades mejoradas pueden combinarse para evaluar sus efectos en combinación con otras.

20 Adicionalmente, es posible una combinación de las dos estrategias anteriores. Tras el injertado de las CDR, se pueden retromutar regiones marco conservadas específicas además de introducir cambios de aminoácido en las CDR. Esta metodología se describe en Wu y col. (1999) J. Mol. Biol. 294:151-162.

25 Aplicando las enseñanzas de la presente invención, un experto en la materia puede usar técnicas comunes, por ejemplo mutagénesis dirigida, para sustituir aminoácidos dentro de las secuencias de las CDR y del armazón ahora desveladas y de este modo generar secuencias de aminoácidos de la región variable adicionales obtenidas de las presentes secuencias. En un sitio de sustitución específico pueden introducirse todos los aminoácidos de origen natural alternativos. Después, los procedimientos desvelados en el presente documento pueden utilizarse para explorar estas secuencias de aminoácidos de la región variable adicionales, para identificar secuencias que tengan las funciones indicadas *in vivo*. De este modo, pueden identificarse secuencias adicionales adecuadas para la preparación de anticuerpos humanos técnicamente diseñados y porciones de unión a antígeno de los mismos, en conformidad con la presente invención. Preferentemente, la sustitución de aminoácidos dentro de los armazones se restringen a una, dos o tres posiciones dentro de una cualquiera o más de las 4 regiones marco conservadas de la cadena ligera y/o la cadena pesada desveladas en el presente documento. Preferentemente, la sustitución de aminoácidos dentro de las CDR se restringen a una, dos o tres posiciones dentro de una cualquiera o más de las 3 CDR de la cadena ligera y/o la cadena pesada. También son posibles combinaciones de los diversos cambios dentro de estas regiones marco conservadas y las CDR descritas anteriormente.

35 La expresión "que trata" (o "trata" o "tratamiento") se refiere a procedimientos que implican un enlentecimiento, interrupción, detención, control, parada, reducción o inversión de la progresión o gravedad de un síntoma, trastorno, afección o enfermedad, pero no necesariamente implica una total eliminación de todos los síntomas, afecciones o trastornos relacionados con la enfermedad asociados con la actividad del CGRP.

40 El término "jaqueca (o jaquecas)" como se utiliza en el presente documento se refiere a "jaquecas no precedidas de aura" (anteriormente "jaqueca común") y "jaquecas precedidas de aura" (anteriormente "jaquecas clásicas") de acuerdo con el Comité de clasificación de las cefaleas de la Sociedad internacional de cefaleas (Sociedad internacional de cefaleas, 2004). Por ejemplo, las "jaquecas no precedidas de aura" normalmente se pueden caracterizar como que tienen característica pulsátil, una intensidad moderada o intensa, y se agravan por la actividad física rutinaria, se emplazan de forma unilateral y están asociadas con náuseas, y con fofobia y fonofobia. Las "jaquecas precedidas de aura" pueden incluir alteraciones en la visión, alteraciones en otros sentidos, debilidad unilateral y en algunos casos dificultad en el habla.

50 Los anticuerpos humanos técnicamente diseñados de la presente invención pueden utilizarse como medicamentos en medicina humana, administrados por una diversidad de vías. Muy preferentemente, tales composiciones son para la administración parenteral. Tales composiciones farmacéuticas pueden prepararse mediante procedimientos bien conocidos en la técnica (véase, por ejemplo, a Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 19° ed. (1995), A. Gennaro y col., Mack Publishing Co.) y comprenden un anticuerpo humano técnicamente diseñado como se desvela en el presente documento y un transportador, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

55 Los resultados de los siguientes ensayos demuestran que los anticuerpos monoclonales ejemplificados y fragmentos de unión a antígeno de los mismos de la presente invención pueden utilizarse para el tratamiento del dolor por osteoartritis.

Ejemplo 1-Producción de anticuerpos

Los anticuerpos I-V pueden fabricarse y purificarse como sigue. Se transfectan de forma transitoria o estable células hospedadoras apropiadas, tal como HEK 293 EBNA o CHO, con un sistema de expresión para la secreción de anticuerpos utilizando una proporción de vector HC:LC predeterminada o un sistema de vector único que codifica ambas LC, tal como la SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: ID NO: 29, SEQ ID NO: 30 o SEQ ID NO: 31, y HC, tal como la SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: ID NO: 35 o SEQ ID NO: 36. El medio clarificado, en el que el anticuerpo se ha secretado, se purifica utilizando cualquiera de muchas técnicas utilizadas comúnmente. Por ejemplo, el medio puede aplicarse de forma conveniente en una columna de Proteína A o de Sefarosa G FF que se ha equilibrado con un tampón compatible, tal como solución salina tamponada con fosfato (pH 7,4). La columna se lava para eliminar componentes de unión no específicos. El anticuerpo unido se eluye, por ejemplo, mediante gradiente de pH (tal como tampón de fosfato de sodio 0,1 M pH 6,8 a tampón citrato de sodio 0,1 M pH 3,0). Las fracciones del anticuerpo se detectan, tal como mediante SDS-PAGE y después se agrupan. La purificación adicional es optativa, dependiendo del uso pretendido. El anticuerpo puede concentrarse y/o esterilizarse por filtración utilizando técnicas comunes. Los agregados solubles y multímeros pueden eliminarse de forma eficaz mediante técnicas comunes, incluyendo la exclusión por tamaño, interacción hidrofoba, intercambio iónico o cromatografía por hidroxipatita. La pureza del anticuerpo tras estas etapas de cromatografía es mayor al 99 %. El producto puede congelarse inmediatamente a -70 °C o pueden liofilizarse. A continuación se proporcionan las secuencias de aminoácidos de estos anticuerpos ejemplificados.

Tabla 1 - SEQ ID NO de los anticuerpos

Anticuerpo	Cadena pesada	Cadena ligera	LCVR	HCVR
I	32	27	17	22
II	33	28	18	23
III	34	29	19	24
IV	35	30	20	25
V	36	31	21	26

Anticuerpo	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
I	12	13	14	3	4	5
II	12	15	14	3	4	5
III	12	16	39	6	7	5
IV	12	15	39	8	4	5
V	12	15	39	9	7	5

EJEMPLO 2: Mediciones de la afinidad (Kd) para los anticuerpos frente a CGRP humanos técnicamente diseñados

La afinidad de unión de los anticuerpos ejemplificados frente a CGRP se determina utilizando un ensayo de resonancia de plasmón superficial en un instrumento Biacore T100 preparado con tampón de corrida HBS-EP+ (GE Healthcare, Hepes 10 mM pH 7,4 + NaCl 150 mM + EDTA 3 mM + tensioactivo P20 al 0,05 %) y la temperatura de análisis ajustada a 37 °C. Se utiliza un chip CM5 que contiene proteína A inmovilizada (generada utilizando acoplamiento de aminas por NHS-EDC convencional) en las cuatro celdas de flujo (Fc) para emplear una metodología de captura. Se preparan muestras de anticuerpo a 2 µg/ml por dilución en tampón de corrida. Se preparan muestras de CGRP humano a concentraciones finales de 5,0, 2,5, 1,3, 0,63, 0,31 y 0 (blanco) nM por dilución en tampón de corrida. Para cada experimento por duplicado se utiliza una alícuota de CGRP de único uso recién preparada para evitar múltiples ciclos de congelación-descongelación. Cada ciclo de análisis consiste en (1) la captura de las muestras de anticuerpo en celdas de flujo distintas (Fc2, Fc3 y Fc4), (2) inyección de 350 µl (210 s) de CGRP sobre toda la Fc a 100 µl por minuto, (3) retorno al flujo de tampón durante 10 minutos para controlar la fase de disociación, (4) regeneración de las superficies del chip con inyección de 5 µl (15 s) de glicina, pH 1,5, (5) equilibrado de las superficies del chip con inyección de 5 µl (15 s) de HBS-EP+. Cada concentración de CGRP se inyecta por duplicado. Los datos se procesan utilizando doble referencia convencional y se ajustan a un modelo de unión 1:1 utilizando el programa informático de evaluación T100 de Biacore, versión 2.0.1, para determinar la velocidad de asociación (k_{on} , unidades $M^{-1}s^{-1}$), la velocidad de disociación (k_{off} , unidades s^{-1}) y $R_{máx}$ (unidades de UR). La constante de disociación en equilibrio (K_D) se calcula a partir de la relación $K_D = k_{off}/k_{on}$, y se expresa en unidades molares. Los valores proporcionados en la Tabla 2 son las medias de n número de experimentos. La Tabla 2 demuestra que los anticuerpos ejemplificados de la presente invención se unen a la CGRP con afinidades < 200 pM.

Tabla 2 - Afinidades de unión de los anticuerpos.

Anticuerpo	K _D (pM) Media ± DT	n
I	190	1
II	26 ± 6	3
III	31 ± 19	6
IV	24 ± 10	4
V	24 ± 6	2

EJEMPLO 3 - Reducción del dolor en un modelo de MIA.

La inyección de ácido monoyodoacético (MIA) en la articulación de la rodilla de ratas produce una lesión inflamatoria aguda que después progresa a una degeneración crónica en los tejidos articulares de la articulación inyectada. El dolor resultante de la lesión articular puede medirse a través de la carga de peso diferencial de las patas traseras utilizando un analizador de incapacidad. El modelo de MIA está bien descrito en la bibliografía y se ha utilizado para demostrar la eficacia frente al dolor para una diversidad de mecanismos y compuestos. La eficacia se mide de forma rutinaria por la capacidad de un compuesto para normalizar parcialmente la distribución de carga.

Para determinar la capacidad de reducir el dolor de los anticuerpos ejemplificados de la presente invención, se utilizan ratas Lewis macho (Harlan, Indianapolis, IN) de aproximadamente ocho semanas en el momento de la inyección de MIA. Las ratas se alojan en grupos de dos o tres por jaula y se mantienen a una temperatura constante, y en un ciclo de 12 horas de luz/12 horas de oscuridad. Los animales tienen libre acceso al alimento y al agua en cualquier momento, excepto durante la recolección de datos. Todos los experimentos se llevan a cabo de acuerdo con los protocolos aprobados por el Comité institucional para el cuidado y uso de animales de Eli Lilly.

El día 0 se inyecta MIA 0,3 mg en 50 µl de solución salina en la rodilla derecha de cada una de las ratas y 50 µl de solución salina en la rodilla izquierda. En un día establecido después de la inyección de MIA se administra en PBS por vía subcutánea anticuerpo IgG4 humano de control o anticuerpo frente a CGRP de prueba (n=6 por grupo). Tres días después de la dosificación con el anticuerpo frente a CGRP de prueba se mide el dolor utilizando el análisis de incapacidad, que mide la diferencia de la carga de peso en la pata trasera entre las rodilla tratada con MIA y la inyectada con solución salina. Cada medición es el promedio de tres mediciones distintas, cada una medida durante 1 segundo.

Los datos se presentan como inhibición porcentual del dolor, calculado dividiendo la media del grupo tratado con anticuerpo frente a CGRP por la media del grupo del anticuerpo de control, restando este valor a 1 y multiplicando este valor resultante por 100. Los grupos tratados con CGRP también se compararon con los grupos de vehículo mediante análisis de una vía de las medias y la prueba de Dunnett, utilizando programa de análisis estadístico JMP (versiones 5.1 y 6) (SAS Institute Inc., Cary, NC). Las diferencias se consideran como significativas si el valor P es menor de 0,05. Como se muestra en la Tabla 3, los datos demuestran que los anticuerpos frente a CGRP ejemplificados de la presente invención reducen significativamente el dolor.

Tabla 3 - Inhibición porcentual del dolor inducido por MIA

Anticuerpo	Dosis y vía	Inhibición % de MIA	Significativo por la prueba de Dunnett (p < 0,05)
I	20 mg/kg sc	20 %	Sí
II	4 mg/kg sc	30 %	Sí
III	4 mg/kg sc	37 %	Sí
IV	4 mg/kg sc	37 %	Sí
V	4 mg/kg sc	19 %	sí

EJEMPLO 4 - Inhibición de la formación de AMPc inducida por CGRP en células SK-N-MC

Para comparar la capacidad de un anticuerpo de la presente invención con el Anticuerpo G1 (LCVR- SEQ ID NO: 40 y HCVR- SEQ ID NO: 41), se determina la inhibición de la formación de AMPc inducida por CGRP en SK-N-MC. La unión del CGRP a su receptor da como resultado la estimulación de la producción de AMPc. El receptor de CGRP es un complejo heterotrimérico que consiste en el receptor similar al receptor de calcitonina (CLR, un receptor acoplado a proteína G) y la proteína modificadora de la actividad del receptor (RAMP)-1, acoplada de forma citoplasmática a la proteína componente del receptor (RCP). La línea celular de neuroepitelioma humano SK-N-MC expresa estas 3 moléculas de forma natural y puede, por lo tanto, utilizarse para evaluar el efecto del CGRP sobre los acontecimientos de transducción de señales. La producción de AMPc es una medida convencional de la activación de un receptor acoplado a proteína G.

Las células SK-N-MC se cultivan en MEM, conteniendo SFB al 10 %, aminoácidos no esenciales MEM 1X, piruvato de sodio MEM 100 mM 1X, pen/strep 1X y L-glutamina 2 mM. Tras la recogida las células se lavan una vez y se resuspenden en tampón de ensayo (tampón de estimulación (HBSS con Mg y Ca, HEPES 5 mM, BSA al 0,1 %, ácido ascórbico 100 μ M) diluido 1:2 con PBS de Dulbecco que contiene una concentración final de IBMX 0,5 mM) y se siembran en placas de 96 pocillos a 15.000 células por pocillo. Se añade a las células el anticuerpo de prueba o un anticuerpo IgG4 humano de control (diluciones en serie con factor 4 en tampón de ensayo, 10 concentraciones), seguido de una cantidad fija de α -CGRP humano (2 nM; Bachem H1470). Las placas se incuban durante 1 h a temperatura ambiente. Los niveles de AMPc se miden mediante un sistema de ensayo de fluorescencia homogénea resuelta en el tiempo (HTRF) (Cisbio).

- 10 La cantidad de AMPc inducida por CGRP humano 2 nM en presencia de concentraciones variables de anticuerpo se calcula como una inhibición porcentual en comparación con CGRP solo. La concentración de anticuerpo que produce el 50 % de inhibición de la producción de AMPc (CI_{50}) se calcula después a partir de un modelo de ajuste de curva de 4 parámetros. Siguiendo los procedimientos como se describe en el presente documento, el Anticuerpo III (CI_{50} de 0,41 nM) inhibió la cantidad de AMPc inducida por CGRP en un grado mucho mayor que el Anticuerpo G1 (CI_{50} de 5,36 nM), posiblemente debido a la velocidad K_{on} más rápida del anticuerpo III (velocidad K_{on} medida por Biacore).

EJEMPLO 5 - Modelo de extravasación de proteínas plasmáticas (EPP) de la duramadre en rata

El modelo de EPP en rata es un modelo preclínico bien establecido que puede utilizarse para evaluar la eficacia de los anticuerpos anti CGRP para el tratamiento de la jaqueca.

- 20 Se prepara en solución salina una solución de 2 mg/ml de un anticuerpo (Ac) anti CGRP. Todas las diluciones posteriores se preparan con solución salina. También se prepara en solución salina una solución de anticuerpo monoclonal de control de isotipo (IgG) de 2 mg/ml.

Se anestesian con Nembutal (60 mg/kg, ip.) ratas Sprague-Dawley macho de Harlan Laboratories (250 a 350 g) y se colocan en un marco estereotáctico (David Kopf Instruments) con la barra incisiva ajustada a -2,5 mm. Después de una incisión sagital media con bisturí, se perforan a través del cráneo dos pares de orificios bilaterales (3,2 mm de forma posterior, 1,8 y 3,8 mm de forma lateral, todas las coordenadas con referencia al bregma). Se hacen descender a través de los orificios en ambos hemisferios parejas de electrodos de estimulación de acero inoxidable (Medical Systems Inc), aislados excepto en las puntas, hasta una profundidad de 9,2 mm por debajo de la duramadre. Los anticuerpos de prueba o el vehículo de solución salina se administran por vía intravenosa en la vena femoral (1 ml/kg). Ocho minutos más tarde se inyecta en la vena femoral una solución de seroalbúmina bovina (BSA) marcada con colorante isotiocianato de fluoresceína (FITC) (FITC-BSA, Sigma A9771) (20 mg/kg, iv.) para que actúe como un marcador de la extravasación de proteínas. Diez minutos después de la dosificación de los anticuerpos de prueba o del vehículo, se estimula el ganglio de Gasser izquierdo durante 5 minutos a una intensidad de corriente de 1,0 mA (5 Hz, duración de 5 ms) con un estimulador Model S48 Grass Instrument. Cinco minutos después de la estimulación se sacrifican las ratas por desangrado con 40 ml de solución salina. El desangrado también elimina en los vasos sanguíneos la FITC/BSA residual. La parte superior del cráneo se retira para recoger las membranas de la duramadre. Las muestras de membrana se retiran de ambos hemisferios, se lavan con agua y se extienden de forma plana sobre portaobjetos de microscopio. Los portaobjetos se secan durante 15 minutos en un calentador de portaobjetos y se cubren con cubreobjetos con una solución de glicerol/agua al 70 %.

- 40 Se utiliza un microscopio de fluorescencia (Zeiss) provisto de una rejilla de difracción monocromadora y un espectrofotómetro para cuantificar la cantidad de colorante FITC-BSA en cada muestra de duramadre. El microscopio está provisto de una plataforma motorizada conectada a un ordenador personal. Esto facilita el movimiento controlado por ordenador de la plataforma, con mediciones de fluorescencia en 25 puntos (pasos progresión de 500 μ m) en cada muestra de duramadre. La extravasación inducida por la estimulación eléctrica del ganglio de Gasser es un efecto ipsilateral (es decir, se produce solo en el lado de la duramadre en que se estimula el ganglio de Gasser). Esto permite utilizar la otra mitad de la duramadre (no estimulada) como control. Se calcula la proporción de extravasación (es decir, la proporción de la cantidad de extravasación en la duramadre del lado estimulado en comparación con el lado no estimulado).

SECUENCIAS

- 50 ACDTATCVTHRLAGLLSRSGGVVKNFVPTNVGSKAF (SEQ ID NO:1)
ACNTATCVTHRLAGLLSRSGGMVKS NFVPTNVGSKAF (SEQ ID NO:2)

Anticuerpo	LCDR1	LCDR2	LCDR3
I	RASQDIDNYLN (SEQ ID NO:3)	YTSEYHS (SEQ ID NO:4)	QQGDALPPT (SEQ ID NO:5)
II	RASQDIDNYLN (SEQ ID NO:3)	YTSEYHS (SEQ ID NO:4)	QQGDALPPT (SEQ ID NO:5)
III	RASKDISKYLN (SEQ ID NO:6)	YTSYGYS (SEQ ID NO:7)	QQGDALPPT (SEQ ID NO:5)
IV	RASRPIDKYLN (SEQ ID NO:8)	YTSEYHS (SEQ ID NO:4)	QQGDALPPT (SEQ ID NO:5)
V	RASQDIDKYLN (SEQ ID NO:9)	YTSYGYS (SEQ ID NO:7)	QQGDALPPT (SEQ ID NO:5)
consenso	RASX ₁ X ₂ IX ₃ X ₄ YLN (SEQ ID NO:10)	YTSX ₅ YHS (SEQ ID NO:11)	QQGDALPPT (SEQ ID NO:5)

X₁ es Q, R o K;

X₂ es D o P;

X₃ es D o S;

X₄ es N o K; y

5 X₅ es G o E.

Anticuerpo	LCDR1	LCDR2	LCDR3
I	GYTFGNYWMQ (SEQ ID NO:12)	AIYEGTGDTRYIQKFAG (SEQ ID NO:13)	LSDYVSGFSY (SEQ ID NO:14)
II	GYTFGNYWMQ (SEQ ID NO:12)	AIYEGTGKTVYIQKFAG (SEQ ID NO:15)	LSDYVSGFSY (SEQ ID NO:14)
III	GYTFGNYWMQ (SEQ ID NO:12)	AIYEGTGKTVYIQKFAD (SEQ ID NO:16)	LSDYVSGFGY (SEQ ID NO:39)
IV	GYTFGNYWMQ (SEQ ID NO:12)	AIYEGTGKTVYIQKFAG (SEQ ID NO:15)	LSDYVSGFGY (SEQ ID NO:39)
V	GYTFGNYWMQ (SEQ ID NO:12)	AIYEGTGKTVYIQKFAG (SEQ ID NO:15)	LSDYVSGFGY (SEQ ID NO:39)
consenso	GYTFGNYWMQ (SEQ ID NO:12)	AIYEGTGX6TX7YIQKFAX8 (SEQ ID NO:37)	LSDYVSGFX9Y (SEQ ID NO:38)

X₆ es K o D;

X₇ es V o R;

X₈ es D o G; y

10 X₉ es G o S.

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIDNYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSEYH
SGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQGDALPPTFGQGTKLEIK (SEQ
ID NO: 17)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIDNYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSEYH
SGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQGDALPPTFGQGTKLEIK (SEQ
ID NO: 18)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASKDISKYLWYQQKPGKAPKLLIYYTSGYH
SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGDALPPTFGGGTKVEIK (SEQ
ID NO: 19)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASRPIDKYLWYQQKPGKAPKLLIYYTSEYHS
GVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQGDALPPTFGQGTKLEIK (SEQ ID
NO: 20)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQDIDKYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSGYH
SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGDALPPTFGGGTKVEIK (SEQ
ID NO: 21)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFGNYWMQWVRQAPGQGLEWMGAI
YEGTGDTRYIQKFAGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARLSDYVSG
FSYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 22)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFGNYWMQWVRQAPGQGLEWMGAI
YEGTGKTVYIQKFAGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARLSDYVSG
5 FSYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 23)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFGNYWMQWVRQAPGQGLEWMGAI
YEGTGKTVYIQKFADRVITITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARLSDYVSGF
GYWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 24)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFGNYWMQWVRQAPGQGLEWMGAI
YEGTGKTVYIQKFAGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARLSDYVSG
FGYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 25)

10 QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFGNYWMQWVRQAPGQGLEWMGAI
YEGTGKTVYIQKFAGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARLSDYVSGF
GYWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 26)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQDIDNYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSEYH
SGVPSRFSGSGSGTDFTFITISLQPEDATYYCQQGDALPPTFGQGKLEIKRTVAA
PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD
SKDSTYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID
NO: 27)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIDNYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSEYH
SGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQGDALPPTFGGQGTKLEIKRTVAA
PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD
SKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID
NO: 28)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASKDISKYLWYQQKPGKAPKLLIYYTSGYH
SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGDALPPTFGGGTKVEIKRTVA
APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ
DSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID
NO: 29)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASRPIDKYLWYQQKPGKAPKLLIYYTSEYHS
GVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQGDALPPTFGGQGTKLEIKRTVAAP
SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS
KDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:
30)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIDKYLWYQQKPGKAPKLLIYYTSGYH
SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGDALPPTFGGGTKVEIKRTVA

APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ
DSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID
NO: 31)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFGNYWMQWVRQAPGQGLEWMGAI
 YEGTGDTRYIQKFAGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDNAVYYCARLSDYVSG
 FSYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSW
 NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDK
 RVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPE
 VQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN
 NKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
 WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHN
 HTQKSLSLSLG (SEQ ID NO: 32)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFGNYWMQWVRQAPGQGLEWMGAI
 YEGTGKTVYIQKFAGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDNAVYYCARLSDYVSG
 FSYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSW
 NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDK
 RVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPE
 VQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN
 NKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
 WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHN
 HTQKSLSLSLG (SEQ ID NO: 33)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFGNYWMQWVRQAPGQGLEWMGAI
 YEGTGKTVYIQKFADRVTTITADKSTSTAYMELSSLRSEDNAVYYCARLSDYVSGF
 GYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN
 SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKR
 VESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEV
 QFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN
 5 KGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW
 ESNQGPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNH
 YTQKSLSLSLG (SEQ ID NO: 34)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFGNYWMQWVRQAPGQGLEWMGAI
YEGTGKTVYIQKFAGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARLSDYVSG
FGYWGGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSW
NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDK
RVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVVSQEDPE
VQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN
KGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHN
HYTQKSLSLSLG (SEQ ID NO: 35)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFGNYWMQWVRQAPGQGLEWMGAI
YEGTGKTVYIQKFAGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARLSDYVSGF
GYWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN
SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKR
VESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVVSQEDPEV
QFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN
KGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW
ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNH
YTQKSLSLSLG (SEQ ID NO: 36)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCASKRVTITYVSWYQQKPGQAPRLLIYGASNRY
LGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCSQSYNYPYTFGQGKLEIK (SEQ
ID NO: 40)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYWISWVRQAPGKGLEWVAEIRSE
SDASATHYAEAVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCLAYFDYGLAI
QNYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 41)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASX₁X₂IX₃X₄YLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSX₅
YHSGVPSRFSGSGSGTDFTX₆TISSLQPEDX₇ATYYCQQGDALPPTFGX₈GTKX₉EIK

- 10 X₁=Q, K o R;
X₂=D o P;
X₃=D o S;
X₄=K o N;

X₅=E o G;
 X₆=F o L;
 X₇=I o F;
 X₈=Q o G; y
 5 X₉=L o V. (SEQ ID NO: 42)

QVQLVQSGAEVKKPGX₁SVKVSCKASGYTFGNYWMQWVRQAPGQGLEWMGAI
 YEGTGX₂TX₃YIQKFAX₄RVTX₅TX₆DX₇STSTX₈YMELSSLRSEDVAVYYCARLSDY
 VSGFX₉YWGQGTGX₁₀VTVSS

10 X₁=A o S;
 X₂=K o D;
 X₃=V o R;
 X₄=G o D;
 X₅=M o I;
 15 X₆=R o A;
 X₇=T o K;
 X₈=V o A;
 X₉=G o S; y
 X₁₀=L o T. (SEQ ID NO: 43)

LISTADO DE SECUENCIAS

20 <110> Eli Lilly and Company
 <120> ANTICUERPOS FRENTE A CGRP
 25 <130> X-18827
 <150> 61/353323
 <151> 10-06-2010
 30 <160> 43
 <170> PatentIn versión 3.5
 35 <210> 1
 <211> 37
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 40 <220>
 <223> Construcción sintética
 <400> 1

Ala Cys Asp Thr Ala Thr Cys Val Thr His Arg Leu Ala Gly Leu Leu
 1 5 10 15

Ser Arg Ser Gly Gly Val Val Lys Asn Asn Phe Val Pro Thr Asn Val
 20 25 30

Gly Ser Lys Ala Phe
 35

45 <210> 2
 <211> 37

<212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 5 <223> Construcción sintética

 <400> 2

 Ala Cys Asn Thr Ala Thr Cys Val Thr His Arg Leu Ala Gly Leu Leu
 1 5 10 15

 Ser Arg Ser Gly Gly Met Val Lys Ser Asn Phe Val Pro Thr Asn Val
 20 25 30

 Gly Ser Lys Ala Phe
 35
 10
 <210> 3
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 15
 <220>
 <223> Construcción sintética

 <400> 3
 20

 Arg Ala Ser Gln Asp Ile Asp Asn Tyr Leu Asn
 1 5 10

 <210> 4
 <211> 7
 25 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Construcción sintética
 30
 <400> 4

 Tyr Thr Ser Glu Tyr His Ser
 1 5
 35
 <210> 5
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 40
 <220>
 <223> Construcción sintética

 <400> 5

 Gln Gln Gly Asp Ala Leu Pro Pro Thr
 1 5
 45
 <210> 6
 <211> 11
 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 6

Arg Ala Ser Lys Asp Ile Ser Lys Tyr Leu Asn
1 5 10

<210> 7

 $\langle 211 \rangle$ 7

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

 $\langle 220 \rangle$

<223> Construcción sintética

<400> 7

Tyr Thr Ser Gly Tyr His Ser
1 5

<210> 8

$\langle 211 \rangle$ 11

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 8

Arg Ala Ser Arg Pro Ile Asp Lys Tyr Leu Asn
1 5 10

<210> 9

$\langle 211 \rangle$ 11

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 9

Arg Ala Ser Gln Asp Ile Asp Lys Tyr Leu Asn
1 5 10

<210> 10

$\langle 211 \rangle$ 11

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

$\langle 220 \rangle$

<223> Construcción sintética

<220>

<221> MISC FEATURE

 $\langle 222 \rangle \quad (4) \dots (\bar{4})$

<223> Xaa en la posición 4 es Gln, Arg o Lys

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (5)..(5)
 <223> Xaa en la posición 5 es Asp o Pro
 5
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (7)..(7)
 <223> Xaa en la posición 7 es Asp o Ser
 10
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (8)..(8)
 <223> Xaa en la posición 8 es Asn o Lys
 15
 <400> 10

	Arg	Ala	Ser	Xaa	Xaa	Ile	Xaa	Xaa	Tyr	Leu	Asn
	1				5					10	

 20
 <210> 11
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 25
 <220>
 <223> Construcción sintética

 30
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (4)..(4)
 <223> Xaa en la posición 4 es Gly o Glu
 <400> 11

		Tyr	Thr	Ser	Xaa	Tyr	His	Ser
		1				5		

 35
 <210> 12
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 40
 <220>
 <223> Construcción sintética
 45
 <400> 12

	Gly	Tyr	Thr	Phe	Gly	Asn	Tyr	Trp	Met	Gln
	1				5					10

 50
 <210> 13
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 55
 <220>
 <223> Construcción sintética
 <400> 13

Ala Ile Tyr Glu Gly Thr Gly Asp Thr Arg Tyr Ile Gln Lys Phe Ala
1 5 10 15

Gly

5 <210> 14
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
10 <223> Construcción sintética

<400> 14

Leu Ser Asp Tyr Val Ser Gly Phe Ser Tyr
1 5 10

15 <210> 15
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Construcción sintética

<400> 15

Ala Ile Tyr Glu Gly Thr Gly Lys Thr Val Tyr Ile Gln Lys Phe Ala
1 5 10 15

Gly

25

30 <210> 16
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

35 <400> 16

Ala Ile Tyr Glu Gly Thr Gly Lys Thr Val Tyr Ile Gln Lys Phe Ala
1 5 10 15

Asp

40 <210> 17
<211> 107
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
45 <223> Construcción sintética

<400> 17

ES 2 656 000 T3

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Asp 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 Tyr Thr Ser Glu Tyr His Ser 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 Gly Asp Ala Leu Pro Pro
85 90 95

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

<210> 18

<211> 107

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 18

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 Asp 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 Tyr Thr Ser Glu Tyr His Ser 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 Gly Asp Ala Leu Pro Pro
85 90 95

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

<210> 19

<211> 107

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 19

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 Lys Asp Ile Ser Lys Tyr
20 25 30

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

Tyr Tyr Thr Ser Gly Tyr His 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 Gly Asp Ala Leu Pro Pro
85 90 95

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

5 <210> 20
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Construcción sintética

 10 <400> 20

 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 Arg Pro Ile Asp Lys Tyr
 20 25 30

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

 Tyr Tyr Thr Ser Glu Tyr His Ser 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 Gly Asp Ala Leu Pro Pro
 85 90 95

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

 15 <210> 21
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 20 <223> Construcción sintética

 <400> 21

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 Asp Lys Tyr
20 25 30

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

Tyr Tyr Thr Ser Gly Tyr His 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 Gly Asp Ala Leu Pro Pro
85 90 95

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

<210> 22

<211> 119

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 22

ES 2 656 000 T3

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 Gly Asn Tyr
20 25 30

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

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

Ala Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

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

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

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 23
<211> 119
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 23

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 Gly Asn Tyr
 20 25 30

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

Gly Ala Ile Tyr Glu Gly Thr Gly Lys Thr Val Tyr Ile Gln Lys Phe
 50 55 60

Ala Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
 65 70 75 80

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

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

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 24
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Construcción sintética

<400> 24

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

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

ES 2 656 000 T3

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

Gly Ala Ile Tyr Glu Gly Thr Gly Lys Thr Val Tyr Ile Gln Lys Phe
50 55 60

Ala Asp Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr 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 Leu Ser Asp Tyr Val Ser Gly Phe Gly Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 25
<211> 119
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 25

ES 2 656 000 T3

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

<210> 26
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Construcción sintética
 <400> 26

ES 2 656 000 T3

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

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

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

Gly Ala Ile Tyr Glu Gly Thr Gly Lys Thr Val Tyr Ile Gln Lys Phe
50 55 60

Ala Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr 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 Leu Ser Asp Tyr Val Ser Gly Phe Gly Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 27

<211> 214

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 27

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 Asp 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 Tyr Thr Ser Glu Tyr His Ser 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 Gly Asp Ala Leu Pro Pro
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
 100 105 110
 Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125
 Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
 130 135 140
 Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160
 Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175
 Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190
 Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205
 Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210

<210> 28
 <211> 214
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Construcción sintética
 <400> 28

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 Asp 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 Tyr Thr Ser Glu Tyr His Ser 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 Gly Asp Ala Leu Pro Pro
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
 100 105 110
 Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125
 Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
 130 135 140
 Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160
 Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175
 Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190
 Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205
 Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210

<210> 29

<211> 214

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 29

```

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 Lys Asp Ile Ser Lys Tyr
20      25      30

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

Tyr Tyr Thr Ser Gly Tyr His 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 Gly Asp Ala Leu Pro Pro
85      90      95

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

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

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

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

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

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

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

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

```

5

<210> 30

<211> 214

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

5 <223> Construcción sintética

<400> 30

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 Arg Pro Ile Asp Lys Tyr
 20 25 30

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

Tyr Tyr Thr Ser Glu Tyr His Ser 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 Gly Asp Ala Leu Pro Pro
 85 90 95

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

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

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

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

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

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

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

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210

	<210> 31
	<211> 214
	<212> PRT
5	<213> Secuencia artificial
	<220>
	<223> Construcción sintética
10	<400> 31

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 Asp Lys Tyr
 20 25 30
 Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Tyr Thr Ser Gly Tyr His 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 Gly Asp Ala Leu Pro Pro
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
 100 105 110
 Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125
 Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
 130 135 140
 Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160
 Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175
 Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190
 Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205
 Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210

<210> 32
 <211> 445
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Construcción sintética

ES 2 656 000 T3

<400> 32

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 Gly Asn Tyr
20 25 30

Trp	Met	Gln	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met	35	40	45	
Gly	Ala	Ile	Tyr	Glu	Gly	Thr	Gly	Asp	Thr	Arg	Tyr	Ile	Gln	Lys	Phe	50	55	60	
Ala	Gly	Arg	Val	Thr	Met	Thr	Arg	Asp	Thr	Ser	Thr	Ser	Thr	Val	Tyr	65	70	75	80
Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	85	90	95	
Ala	Arg	Leu	Ser	Asp	Tyr	Val	Ser	Gly	Phe	Ser	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	100	105	110	
Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	115	120	125	
Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg	Ser	Thr	Ser	Glu	Ser	Thr	Ala	Ala	Leu	130	135	140	
Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	145	150	155	160
Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	165	170	175	
Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	180	185	190	
Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Lys	Thr	Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp	His	Lys	Pro	195	200	205	
Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Ser	Lys	Tyr	Gly	Pro	Pro	210	215	220	
Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	225	230	235	240
Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	245	250	255	
Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	Gln	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	260	265	270	
Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	275	280	285	

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 33

<211> 445

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 33

ES 2 656 000 T3

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 Gly Asn Tyr
20 25 30

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

Gly Ala Ile Tyr Glu Gly Thr Gly Lys Thr Val Tyr Ile Gln Lys Phe
50 55 60

Ala	Gly	Arg	Val	Thr	Met	Thr	Arg	Asp	Thr	Ser	Thr	Ser	Thr	Val	Tyr		
65					70					75					80		
Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys		
				85					90					95			
Ala	Arg	Leu	Ser	Asp	Tyr	Val	Ser	Gly	Phe	Ser	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly		
			100					105					110				
Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe		
		115					120					125					
Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg	Ser	Thr	Ser	Glu	Ser	Thr	Ala	Ala	Leu		
	130					135					140						
Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp		
145					150					155					160		
Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu		
				165					170					175			
Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser		
			180					185					190				
Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Lys	Thr	Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp	His	Lys	Pro		
		195					200					205					
Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Ser	Lys	Tyr	Gly	Pro	Pro		
	210					215					220						
Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe		
225					230					235					240		
Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro		
				245					250					255			
Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	Gln	Glu	Asp	Pro	Glu	Val		
			260					265					270				
Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr		
		275					280					285					
Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val		
	290					295					300						
Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys		
305					310					315					320		

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 34

<211> 445

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 34

ES 2 656 000 T3

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

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

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

Gly Ala Ile Tyr Glu Gly Thr Gly Lys Thr Val Tyr Ile Gln Lys Phe
50 55 60

Ala Asp Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr 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 Leu Ser Asp Tyr Val Ser Gly Phe Gly Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
 115 120 125
 Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu
 130 135 140
 Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
 145 150 155 160
 Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
 165 170 175
 Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
 180 185 190
 Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro
 195 200 205
 Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro
 210 215 220
 Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
 225 230 235 240
 Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
 245 250 255
 Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val
 260 265 270
 Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
 275 280 285
 Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
 290 295 300
 Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
 305 310 315 320
 Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser
 325 330 335
 Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
 340 345 350

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

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

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

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

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

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

<210> 35

<211> 445

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 35

ES 2 656 000 T3

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 36

<211> 445

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 36

ES 2 656 000 T3

Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ser	1	5	10	15
Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Gly	Asn	Tyr	20	25	30	
Trp	Met	Gln	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met	35	40	45	
Gly	Ala	Ile	Tyr	Glu	Gly	Thr	Gly	Lys	Thr	Val	Tyr	Ile	Gln	Lys	Phe	50	55	60	
Ala	Gly	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Ala	Asp	Lys	Ser	Thr	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	Leu	Ser	Asp	Tyr	Val	Ser	Gly	Phe	Gly	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	100	105	110	
Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	115	120	125	
Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg	Ser	Thr	Ser	Glu	Ser	Thr	Ala	Ala	Leu	130	135	140	
Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	145	150	155	160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
 165 170 175
 Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
 180 185 190
 Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro
 195 200 205
 Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro
 210 215 220
 Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
 225 230 235 240
 Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
 245 250 255
 Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val
 260 265 270
 Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
 275 280 285
 Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
 290 295 300
 Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
 305 310 315 320
 Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser
 325 330 335
 Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
 340 345 350
 Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
 355 360 365
 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
 370 375 380
 Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
 385 390 395 400
 Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
 405 410 415

ES 2 656 000 T3

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

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

5 <210> 37
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Construcción sintética

15 <220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (8)..(8)
<223> Xaa en la posición 8 es Lys o Asp

20 <220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (10)..(10)
<223> Xaa en la posición 10 es Val o Arg

25 <220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (17)..(17)
<223> Xaa en la posición 17 es Asp o Gly

<400> 37

Ala Ile Tyr Glu Gly Thr Gly Xaa Thr Xaa Tyr Ile Gln Lys Phe Ala
1 5 10 15

Xaa

30 <210> 38
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

35 <220>
<223> Construcción sintética

40 <220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (9)..(9)
<223> Xaa en la posición 9 es Gly o Ser

<400> 38

45 Leu Ser Asp Tyr Val Ser Gly Phe Xaa Tyr
1 5 10

50 <210> 39
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 39

Leu Ser Asp Tyr Val Ser Gly Phe Gly Tyr
1 5 10

$\langle 210 \rangle$ 40

<211> 107

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

 $\langle 220 \rangle$

<223> Construcción sintética

<400> 40

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

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

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

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

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

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

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

<210> 41

$\langle 211 \rangle$ 122

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 41

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

5 <210> 42
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 10 <220>
 <223> Construcción sintética
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (27)..(27)
 <223> Xaa en la posición 27 es Gln, Lys, o Arg
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (28)..(28)
 <223> Xaa en la posición 28 es Asp o Pro
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (30)..(30)
 <223> Xaa en la posición 30 es Asp o Ser
 30 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (31)..(31)
 <223> Xaa en la posición 31 es Lys o Asn
 <220>
 <221> MISC_FEATURE

<222> (53)..(53)
 <223> Xaa en la posición 53 es Glu o Gly

5
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (73)..(73)
 <223> Xaa en la posición 73 es Phe o Leu

10
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (83)..(83)
 <223> Xaa en la posición 83 es Ile o Phe

15
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (100)..(100)
 <223> Xaa en la posición 100 es Gln o Gly

20
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (104)..(104)
 <223> Xaa en la posición 104 es Leu o Val

25
 <400> 42

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

<210> 43
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30

<220>
 <223> Construcción sintética

35
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (16)..(16)
 <223> Xaa en la posición 16 es Ala o Ser

5
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (57)..(57)
 <223> Xaa en la posición 57 es Lys o Asp

10
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (59)..(59)
 <223> Xaa en la posición 59 es Val o Arg

15
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (66)..(66)
 <223> Xaa en la posición 66 es Gly o Asp

20
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (70)..(70)
 <223> Xaa en la posición 70 es Met o Ile

25
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (72)..(72)
 <223> Xaa en la posición 72 es Arg o Ala

30
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (74)..(74)
 <223> Xaa en la posición 74 es Thr o Lys

35
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (79)..(79)
 <223> Xaa en la posición 79 es Val o Ala

40
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (107)..(107)
 <223> Xaa en la posición 107 es Gly o Ser

45
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (114)..(114)
 <223> Xaa en la posición 114 es Leu o Thr

<400> 43

ES 2 656 000 T3

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

REIVINDICACIONES

1. Un anticuerpo frente a CGRP humano técnicamente diseñado que comprende una región variable de la cadena ligera (LCVR) y una región variable de la cadena pesada (HCVR), en el que dicha LCVR comprende las secuencias de aminoácidos de LCDR1, LCDR2, LCDR3 y la HCVR comprende las secuencias de aminoácidos de HCDR1, HCDR2, HCDR3, en el que LCDR1 es RASKDISKYLN (SEQ ID NO: 6), LCDR2 es YTSGYHS (SEQ ID NO: 7), LCDR3 es QQGDALPPT (SEQ ID NO: 5), HCDR1 es GYTFGNYWMQ (SEQ ID NO: 12), HCDR2 es AIYEGTGKTVYIQKFAD (SEQ ID NO: 16) y HCDR3 es LSDYVSGFGY (SEQ ID NO: 39).
2. El anticuerpo frente a CGRP humano técnicamente diseñado de la reivindicación 1, en el que dicha secuencia de aminoácidos de LCVR es la SEQ ID NO: 19 y dicha secuencia de aminoácidos de HCVR es la SEQ ID NO: 24.
3. El anticuerpo frente a CGRP humano técnicamente diseñado de la reivindicación 2, en el que dicho anticuerpo comprende una cadena ligera y una cadena pesada, en el que la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera es la SEQ ID NO: 29 y la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada es la SEQ ID NO: 34.
4. El anticuerpo frente a CGRP humano técnicamente diseñado de la reivindicación 3, en el que dicho anticuerpo comprende dos cadenas ligeras y dos cadenas pesadas, en el que cada secuencia de aminoácidos de la cadena ligera es la SEQ ID NO: 29 y cada secuencia de aminoácidos de la cadena pesada es la SEQ ID NO: 34.
5. Una composición farmacéutica, que comprende el anticuerpo frente a CGRP humano técnicamente diseñado de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4 y un transportador, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.
6. Un anticuerpo frente a CGRP humano técnicamente diseñado del mismo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-4 para su uso en terapia.
7. Un anticuerpo frente a CGRP humano técnicamente diseñado de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4 para su uso en el tratamiento de las jaquecas.
8. Un fragmento de unión a antígeno del anticuerpo frente a CGRP humano técnicamente diseñado de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4 o 6-7.