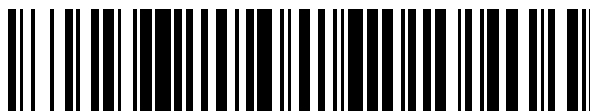


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 687 299**

51 Int. Cl.:

A61K 39/00	(2006.01)
A61K 39/395	(2006.01)
A61P 19/02	(2006.01)
A61P 29/00	(2006.01)
A61P 37/06	(2006.01)
C07K 14/00	(2006.01)
C07K 16/28	(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **12.03.2014 PCT/US2014/024908**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **02.10.2014 WO14159725**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **12.03.2014 E 14717310 (8)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.07.2018 EP 2968491**

54 Título: **Proteínas específicas para BAFF y B7RP1 y usos de las mismas**

30 Prioridad:

13.03.2013 US 201361780260 P
21.02.2014 US 201461942776 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
24.10.2018

73 Titular/es:

AMGEN INC. (100.0%)
One Amgen Center Drive
Thousand Oaks, CA93120-1789, US

72 Inventor/es:

HSU, HAILING;
ZHANG, MING;
KANNAN, GUNASEKARAN;
JACOBSEN, FREDERICK W. y
TSUJI, WAYNE

74 Agente/Representante:

MILTENYI , Peter

ES 2 687 299 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

Proteínas específicas para BAFF y B7RP1 y usos de las mismas

Referencia cruzada a solicitudes relacionadas

5 Esta solicitud reivindica el beneficio de las solicitudes provisionales estadounidenses n.ºs 61/780.260, presentada el 13 de marzo de 2013, y 61/942.776, presentada el 21 de febrero de 2014.

Campo

Las moléculas biespecíficas descritas en el presente documento se encuentran dentro del campo de agentes terapéuticos proteicos.

Antecedentes

10 La mayoría de las proteínas terapéuticas se unen a una única proteína diana con alta especificidad, interfiriendo así con la actividad de esta única proteína diana. Esa proteína puede ser una parte de una o más rutas biológicas que median en una enfermedad humana que está tratándose, y por tanto la proteína terapéutica puede inhibir la progresión de la enfermedad. Sin embargo, la eficacia de las proteínas terapéuticas pocas veces es completa para todos los pacientes. La eficacia incompleta de las proteínas terapéuticas puede deberse, en algunos casos, a la complejidad de una enfermedad. Por ejemplo, algunas enfermedades pueden estar mediadas por múltiples rutas biológicas, o diferentes rutas biológicas pueden desempeñar un papel predominante en la mediación en la actividad de enfermedad en diferentes pacientes que tienen el mismo estado clínicamente definido. Por tanto, en algunas enfermedades puede resultar ventajoso inhibir simultáneamente al menos dos rutas biológicas.

Sumario

20 En el presente documento se proporciona una proteína biespecífica que puede unirse a, e inhibir la actividad biológica de, tanto proteína 1 relacionada con B7 humana (B7RP1, también conocida como GL50 y ligando coestimulante de células T (ICOSLG)) como factor de activación de células B humano (BAFF, también conocido como miembro 13b de la superfamilia de factor de necrosis tumoral (TNFSF13B)). BAFF desempeña un papel en la supervivencia de células B, y B7RP1 desempeña un papel en la coestimulación de células T. Sifuentes Giraldo *et al.*, 2012 dan a conocer dianas farmacológicas para tratar lupus eritematoso sistémico, entre otras, antagonistas de BAFF y antagonistas de ICOS-L/B7RP1/CD275, pero no sugieren combinar inhibidores de BAFF y B7RP1. Por tanto, una proteína que inhibe la actividad de ambas proteínas interfiere con la actividad de células tanto B como T.

La presente invención se define por las siguientes realizaciones de los puntos 1-26:

1. Proteína biespecífica, que comprende:

30 (a) un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene la siguiente fórmula: A-L1-P-L2-P, en la que A es una cadena pesada de inmunoglobulina de un anticuerpo de IgG, L1 es un primer ligador peptídico que está ausente o tiene de 3 a 40 aminoácidos de longitud, P es un péptido de unión a BAFF que tiene de 10 a 40 aminoácidos de longitud, y L2 es un segundo ligador peptídico que está ausente o tiene de 5 a 50 aminoácidos de longitud, y en la que la cadena pesada de inmunoglobulina de (a) y la cadena ligera de inmunoglobulina de (b) forman un anticuerpo de IgG, que comprende dos moléculas del polipéptido de (a) y dos moléculas de la cadena ligera de (b), que puede unirse a B7RP1; y

(b) una cadena ligera de inmunoglobulina de un anticuerpo de IgG,

40 en la que la cadena pesada de inmunoglobulina de (a) y la cadena ligera de inmunoglobulina de (b) forman un anticuerpo de IgG que se une a B7RP1, en la que la proteína comprende dos moléculas del polipéptido de (a) y dos moléculas de la cadena ligera de (b),

en la que la proteína inhibe la proliferación mediada por BAFF de células B humanas, y

en la que la proteína inhibe la proliferación mediada por B7RP1 de células T humanas.

2. Proteína biespecífica según el punto 1, en la que a la cadena pesada de inmunoglobulina le falta una lisina en su extremo C-terminal justo aguas arriba de L1.

45 3. Proteína biespecífica según el punto 1 ó 2, en la que el anticuerpo de IgG es un anticuerpo de IgG1 anti-B7RP1 humano o humanizado.

4. Proteína biespecífica según el punto 1 ó 2, en la que el anticuerpo anti-B7RP1 es un anticuerpo de IgG2 humano o humanizado, o un anticuerpo de IgG4 humano o humanizado.

50 5. Proteína biespecífica según uno cualquiera de los puntos 1-4, en la que P tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 (LPGCKWDLLIKQWVCDPL).

6. Proteína biespecífica según uno cualquiera de los puntos 1-5, en la que L1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 40 (GGGGG).
7. Proteína biespecífica según uno cualquiera de los puntos 1-6, en la que L2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5, preferiblemente en la que L2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6 o SEQ ID NO: 7.
- 5 8. Proteína biespecífica según uno cualquiera de los puntos 1-7, que comprende una CDR1 de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8 (RASQGISNWLA), una CDR2 de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9 (AASSLQS), una CDR3 de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10 (QQYDSYPRT), una CDR1 de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11 (SYWMS), una CDR2 de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 12 (YIKQDGNEKYYVDSVKG), y una CDR3 de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 13 (EGILWFGDLPTF).
- 10 9. Proteína biespecífica según uno cualquiera de los puntos 1-8, que comprende una región variable de cadena ligera de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 14.
- 15 10. Proteína biespecífica según uno cualquiera de los puntos 1-9, que comprende una región variable de cadena pesada de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 15.
11. Proteína biespecífica según uno cualquiera de los puntos 5-10, en la que la cadena ligera de inmunoglobulina de (b) comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 19.
12. Proteína biespecífica según uno cualquiera de los puntos 5-11, en la que el polipéptido de (a) comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 17 ó 18.
- 20 13. Proteína biespecífica según el punto 1, que comprende
 (a) un polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 17 o SEQ ID NO: 18, y
 (b) otro polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 19,
 preferiblemente en la que la proteína biespecífica es un tetrámero que comprende dos moléculas del polipéptido de (a) y dos moléculas del polipéptido de (b).
- 25 14. Proteína biespecífica según el punto 13, en la que el polipéptido de (a) comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 17.
15. Proteína biespecífica según el punto 13, en la que el polipéptido de (b) comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 18.
- 30 16. Composición farmacéutica que comprende la proteína biespecífica según uno cualquiera de los puntos 1 a 15 y un excipiente fisiológicamente aceptable.
17. Ácido nucleico que codifica la proteína biespecífica según uno cualquiera de los puntos 1 a 15.
18. Vector que comprende el ácido nucleico según el punto 17.
19. Célula huésped que contiene el ácido nucleico según el punto 17 y/o el vector según el punto 18.
20. Método para producir una proteína biespecífica que comprende
 35 cultivar la célula huésped según el punto 19 en condiciones tales que se expresa el ácido nucleico y recuperar la proteína a partir de la masa celular o del medio de cultivo.
21. Método según el punto 20, en el que la célula huésped es una célula de mamífero, o una célula de *Escherichia coli*, preferiblemente en el que la célula de mamífero es una célula CHO.
- 40 22. Proteína biespecífica según uno cualquiera de los puntos 1 a 15 o composición farmacéutica según el punto 16 para su uso en el tratamiento de lupus eritematoso sistémico.
23. Proteína biespecífica, proteína o composición farmacéutica para su uso según el punto 22, en la que se administra otro agente terapéutico al paciente antes de, después de o simultáneamente con la proteína biespecífica, y en la que el otro agente terapéutico es un corticosteroide, un agente antipalúdico, ácido retinoico, un AINE, ciclofosfamida, dehidroepiandrosterona, micofenolato de mofetilo, azatioprina, clorambucilo, metotrexato, tacrolimus,
 45 dapsona, talidomida, leflunomida o ciclosporina, preferiblemente en la que el otro agente terapéutico es micofenolato de mofetilo, un corticosteroide, un agente antipalúdico, metotrexato o azatioprina.
24. Proteína biespecífica según uno cualquiera de los puntos 1 a 15 o composición farmacéutica según el punto 16

para su uso en el tratamiento de una enfermedad seleccionada del grupo que consiste en: vasculitis positiva para ANCA, artritis reumatoide (RA), enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, enfermedad celiaca, pénfigo, penfigoide, lupus eritematoso cutáneo subagudo (SCLE), esclerosis múltiple, polineuropatía desmielinizante inflamatoria crónica (CIDP), miastenia grave, síndrome de Goodpasture, glomerulonefritis, anemia hemolítica autoinmunitaria (AIHA),

5 púrpura trombocitopénica idiopática (ITP), hepatitis activa crónica, cirrosis biliar primaria, síndrome de Sjogren, esclerosis sistémica, tiroiditis de Hashimoto, enfermedad de Graves, enfermedad de Addison y neoplasia endocrina múltiple (MEN).

25. Proteína biespecífica según uno cualquiera de los puntos 1 a 15 para su uso como medicamento.

10 26. Composición farmacéutica que comprende la proteína biespecífica según cualquiera de los puntos 1 a 15 para su uso en el tratamiento de lupus eritematoso sistémico o nefritis lúpica.

En el presente documento se describe una proteína biespecífica, en la que la proteína puede inhibir la proliferación mediada por BAFF de células B humanas y en la que la proteína puede inhibir la proliferación mediada por B7RP1 de células T humanas. La proteína biespecífica puede comprender un anticuerpo de IgG que comprende dos cadenas pesadas de inmunoglobulina que tienen secuencias de aminoácidos diferentes y dos cadenas ligeras de

15 inmunoglobulina que tienen secuencias de aminoácidos diferentes. El anticuerpo de IgG puede inhibir la proliferación mediada por BAFF de células B humanas y la proliferación mediada por B7RP1 de células T humanas. El anticuerpo de IgG puede ser un anticuerpo de IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4 y puede ser un anticuerpo de IgG humano o humanizado. La proteína biespecífica puede comprender una región determinante de la complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8, una región determinante de la complementariedad 2 (CDR2) de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:

20 9, una región determinante de la complementariedad 3 (CDR3) de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10, una CDR1 de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11, una CDR2 de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 12, y una CDR3 de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 13. Además, la proteína biespecífica puede comprender una región variable de cadena pesada que comprende SEQ ID NO: 15 o una variante de la misma y una región variable de cadena ligera que comprende SEQ ID NO: 14 o una variante de la misma. Tales secuencias variantes pueden comprender no más de 10 deleciones, inserciones de sustituciones de un único aminoácido por cada 100 aminoácidos con respecto a una secuencia de referencia.

En el presente documento se da a conocer además una proteína biespecífica que puede inhibir la proliferación mediada por BAFF de células B humanas y que puede inhibir la proliferación mediada por B7RP1 de células T humanas, que puede comprender: (a) un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene la siguiente fórmula: A-L1-P-L2-P, en la que A es una cadena pesada de inmunoglobulina de un anticuerpo de IgG, L1 es un primer ligador de que está ausente o tiene de 3 a 40 aminoácidos de longitud, P es un péptido de unión a BAFF que tiene de 10 a 40 aminoácidos de longitud, y L2 es un ligador peptídico que está ausente o tiene de 5 a

35 50 aminoácidos de longitud; y (b) una cadena ligera de inmunoglobulina. La cadena pesada de inmunoglobulina de (a) y la cadena ligera de inmunoglobulina de (b) pueden formar un anticuerpo de IgG, que comprende dos moléculas del polipéptido de (a) y dos moléculas de la cadena ligera de (b), que puede unirse a B7RP1 y/o puede inhibir la proliferación mediada por B7RP1 de células T humanas. A la cadena pesada de inmunoglobulina le puede faltar una lisina en su extremo C-terminal justo aguas arriba de L1. El anticuerpo de IgG puede ser un anticuerpo de IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4 humano o humanizado. El péptido P de unión a BAFF puede tener la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 3. L1 puede tener la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4, 37, 38, 39 ó 40. L2 puede tener la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5, 6 ó 7. La proteína biespecífica puede comprender una CDR1 de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8 (RASQGISNWL A), una CDR2 de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9 (AASSLQS), una CDR3 de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10 (QQYDSYPRT), una CDR1 de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11 (SYWMS), una CDR2 de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 12 (YIKQDGN EKYVDSVKG), y una CDR3 de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 13 (EGILWFGDLPTF). La proteína biespecífica puede comprender una región variable de cadena ligera de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 14 y/o una región variable de cadena pesada de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 15. La proteína biespecífica puede comprender la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 19 o una variante de la misma y la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 17 ó 18 o variantes de las mismas. Tales secuencias variantes pueden comprender no más de 10 deleciones, inserciones de sustituciones de un único aminoácido por cada 100 aminoácidos con respecto a la secuencia de referencia.

En un aspecto adicional, en el presente documento se describe una proteína biespecífica que comprende: (a) un polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 17 o SEQ ID NO: 18 o variantes de las mismas; y (b) otro polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 19 o una variante de la misma. Tales secuencias variantes pueden comprender no más de 10 deleciones, inserciones de sustituciones de un único aminoácido por cada 100 aminoácidos con respecto a la secuencia de referencia. La proteína biespecífica puede inhibir la proliferación mediada por BAFF de células B humanas y la proliferación mediada por B7RP1 de células T humanas. La proteína biespecífica puede ser un tetrámero que comprende dos moléculas del polipéptido

de (a) y dos moléculas del polipéptido de (b).

En el presente documento se da a conocer además que se proporciona una proteína que comprende un ligador que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6 o SEQ ID NO: 7. Esta proteína puede inhibir la proliferación mediada por BAFF de células B humanas y/o la proliferación mediada por B7RP1 de células T humanas. Una proteína de este tipo puede comprender las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 14 y/o SEQ ID NO: 15. Una proteína de este tipo puede comprender una secuencia de aminoácidos que comprende al menos dos copias de SEQ ID NO: 1 separadas por SEQ ID NO: 6 ó 7. Una proteína de este tipo puede incluir una cadena ligera de inmunoglobulina y una pesada de inmunoglobulina, y SEQ ID NO: 6 ó 7 pueden encontrarse en el sentido de 3' del extremo C-terminal de la cadena pesada. SEQ ID NO: 6 ó 7 pueden estar flanqueadas por péptidos que se unen a una proteína distinta de a la que se unen las cadenas pesada y ligera.

Además, en el presente documento se describe una composición farmacéutica que comprende cualquiera de las proteínas biespecíficas descritas en el presente documento o la proteína que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6 ó 7 y un excipiente fisiológicamente aceptable.

Además, en el presente documento se describe un ácido nucleico que codifica cualquier polipéptido incluido en una de las proteínas biespecíficas o las proteínas que comprenden SEQ ID NO: 6 o SEQ ID NO: 7 descritas en el presente documento. Los ácidos nucleicos a modo de ejemplo que codifican un polipéptido incluido en una proteína biespecífica incluyen, por ejemplo, SEQ ID NO: 55, 56, 60, 61, 62 y 63, entre otras. Se describen vectores que comprenden tales ácidos nucleicos y células huésped que contienen tales vectores y/o ácidos nucleicos. En el presente documento se describe además un método para producir una proteína biespecífica que comprende cultivar la célula huésped que contiene un ácido nucleico que codifica cualquiera de las proteínas biespecíficas descritas en el presente documento en condiciones tales que se expresa el ácido nucleico y recuperar la proteína a partir de la masa celular o del medio de cultivo. La célula huésped puede ser una célula de mamífero, por ejemplo, una célula CHO, o una célula bacteriana tal como *Escherichia coli*.

En otro aspecto, en el presente documento se describe un método para tratar lupus eritematoso sistémico, incluyendo nefritis lúpica, que comprende administrar a un paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de cualquiera de las proteínas biespecíficas descritas en el presente documento o una composición farmacéutica que comprende una proteína biespecífica de este tipo. Puede administrarse otro agente terapéutico al paciente antes de, después de o simultáneamente con la proteína biespecífica. El otro agente terapéutico puede ser un corticosteroide, un agente antipalúdico, ácido retinoico, un AINE, ciclofosfamida, dehidroepiandrosterona, micofenolato de mofetilo, azatioprina, clorambucilo, metotrexato, tacrolimus, dapsona, talidomida, leflunomida o ciclosporina.

En un aspecto adicional, en el presente documento se describe un método de tratamiento que comprende administrar a un paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de cualquiera de las proteínas biespecíficas descritas en el presente documento o una composición farmacéutica que comprende una proteína biespecífica descrita en el presente documento, en el que el paciente tiene una enfermedad seleccionada del grupo que consiste en: vasculitis positiva para ANCA, artritis reumatoide (RA), enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, enfermedad celíaca, pénfigo, penfigoide, lupus eritematoso cutáneo subagudo (SCLE), esclerosis múltiple, polineuropatía desmielinizante inflamatoria crónica (CIDP), miastenia grave, síndrome de Goodpasture, glomerulonefritis, anemia hemolítica autoinmunitaria (AIHA), púrpura trombocitopénica idiopática (ITP), hepatitis activa crónica, cirrosis biliar primaria, síndrome de Sjogren, esclerosis sistémica, tiroiditis de Hashimoto, enfermedad de Graves, enfermedad de Addison y neoplasia endocrina múltiple (MEN).

En otro aspecto, en el presente documento se describe una composición farmacéutica que comprende cualquiera de las proteínas biespecíficas o las proteínas que comprenden SEQ ID NO: 6 o SEQ ID NO: 7 descritas en el presente documento. La composición farmacéutica puede ser, por ejemplo, para el tratamiento de lupus eritematoso sistémico o nefritis lúpica.

En otro aspecto, se describe el uso de cualquiera de las proteínas biespecíficas proporcionadas en el presente documento como medicamento.

Breve descripción de las figuras

Figura 1: Diagramas de proteínas biespecíficas que se unen a BAFF y B7RP1. En la fila superior se indica el identificador para cada constructo. En la segunda fila se presenta una breve frase descriptiva relacionada con la estructura de cada constructo. En la fila inferior está un diagrama de la estructura de cada constructo. Los óvalos blancos representan regiones constantes de una cadena pesada o ligera de inmunoglobulina. Los óvalos llenos con líneas horizontales representan regiones variables de cadena pesada o ligera de inmunoglobulina (VH o VL). Los bucles y los cuadrados pequeños negros representan péptidos de unión a BAFF. Las regiones de bisagra se muestran como líneas verticales gruesas, mientras que los puentes disulfuro se muestran como líneas horizontales gruesas. La secuencia de "G4S" en la figura 1 se da a conocer en SEQ ID NO: 72.

Figura 2: Actividad de proteínas biespecíficas en un ensayo de proliferación de células B humanas. Los datos mostrados en las figuras 2A (superior) y 2B (inferior) son de ensayos de proliferación de células B realizados tal como se describe en el ejemplo 1. En ambos paneles, el eje de las x indica la concentración (log[nM]) de la proteína

biespecífica contenida en la mezcla de ensayo, y el eje de las y indica la cantidad de captación de ^3H -timidina (cuentas por minuto (cpm)). El significado de cada símbolo se indica mediante un identificador para cada proteína sometida a ensayo. Los significados de los identificadores se muestran en la figura 1 y se explican en el ejemplo 1.

5 Figura 3: Actividad de proteínas biespecíficas en un ensayo de proliferación de células T humanas. Los datos mostrados son de ensayos de proliferación de células T realizados tal como se describe en el ejemplo 1. El eje de las x indica la concentración ($\log[\text{nM}]$) del anticuerpo biespecífico o αB7RP1 en la mezcla de ensayo, y el eje de las y indica el porcentaje de captación de ^3H -timidina en células T en presencia de inhibidores de B7RP1 a las concentraciones indicadas con respecto a la captación de ^3H -timidina en células T sin inhibidores de B7RP1 (porcentaje del control). Se indica el identificador para cada proteína sometida a prueba.

10 Figura 4: Liberación de citocina por células de amígdalas humanas estimuladas con enterotoxina B de *Staphylococcus* (SEB). En el ejemplo 1 se describen métodos. Los ejes de las y muestran los niveles de señal detectados para las diversas citocinas medidas usando kits Meso Scale Discovery (Rockville, Maryland) según las instrucciones del fabricante. Se trataron las células con αB7RP1 (carril 1), P74293 (carril 2), CTLA4-Ig (carril 3) o IgG humana (carril 4). En la figura se indican las citocinas sometidas a ensayo.

15 Figura 5: Perfil farmacocinético de constructos biespecíficos en ratones. En el ejemplo 1 se describen métodos para evaluar las propiedades farmacocinéticas *in vivo* de P71617, P71619, P71621, P71622, P74293 y P74294 en ratones. Tal como se explica en el ejemplo 1, se detectaron las proteínas biespecíficas mediante dos ensayos diferentes, uno de los cuales sólo detectó la parte Fc de las proteínas (puntos de datos indicados mediante rombos negros; ensayo de Fc) y uno de los cuales detectó tanto la parte Fc como la de unión a BAFF de las proteínas (puntos de datos indicados mediante cuadrados negros; ensayo intacto). El eje de las x indica el tiempo tras la inyección (horas), y el eje de las y indica la concentración de la proteína detectada en suero (ng/ml). En cada panel se indica el constructo inyectado.

20 Figura 6A: Inhibición de la proliferación de células B murinas mediante una molécula biespecífica sustituta murina (el "sustituto murino") que se une a BAFF y B7RP1. El ensayo se realizó tal como se describe en el ejemplo 2. El sustituto murino comprende un anticuerpo de IgG anti-B7RP1 murina que tiene dos copias de un péptido de unión a BAFF unido al extremo C-terminal de la cadena pesada de inmunoglobulina del anticuerpo, tal como se explica en el ejemplo 2. El control positivo fue un peptidocuerpo de unión a BAFF (" αBAFF "). Los datos del sustituto murino y de αBAFF se indican, respectivamente, mediante círculos y cuadrados negros. El eje de las x indica la concentración de estas proteínas de prueba en el ensayo ($\log[\text{pM}]$), y el eje de las y indica la incorporación de ^3H -timidina (cpm).

25 Figura 6B: Inhibición de la unión de B7RP1 a células T murinas mediante el sustituto murino. El ensayo se realizó tal como se describe en el ejemplo 2. Se usó un anticuerpo de IgG anti-B7RP1 murina ("anti-mB7RP1") como control positivo. Los datos del sustituto murino y de anti-mB7RP1 se indican, respectivamente, mediante círculos y cuadrados negros. El eje de las x indica la concentración de estas proteínas de prueba en el ensayo ($\log[\text{pM}]$), y el eje de las y indica el porcentaje de B7RP1 murina-Fc unido a las células T.

30 Figura 7: Efectos *in vivo* sobre parámetros inmunológicos de administración de glóbulos rojos de oveja a ratones. Todos los resultados mostrados en esta figura son de ensayos descritos en el ejemplo 2. Las proteínas con las que se trataron los ratones se indican mediante el relleno en cada barra de la siguiente manera: blanca, anticuerpo anti-mB7RP1; líneas verticales, αBAFF ; líneas horizontales, anticuerpo anti-mB7RP1 más αBAFF ; líneas diagonales, el sustituto murino; tablero de ajedrez, mIgG1; y negro (sólo en el panel inferior), ratones no expuestos a SRBC. Panel superior, porcentaje de células B de bazo en ratones expuestos a glóbulos rojos de oveja (SRBC). El eje de las y indica el porcentaje de células del bazo que son células B. Panel central, porcentaje de células T CD4⁺ de bazo que son células T de memoria en ratones expuestos a SRBC. Panel inferior, niveles de anticuerpos anti-SRBC en suero de ratones expuestos a SRBC.

35 Figura 8A: Proteinuria en ratones NZB/NZW tratados con diversas proteínas. Los métodos se describen en el ejemplo 2. El tratamiento para cada grupo de ratones se indica de la siguiente manera: círculos negros, solución salina tamponada con fosfato (PBS); cuadrados negros, IgG1 murina (un control de isotipo; 5 mg/kg); cuadrados blancos, anticuerpo anti-mB7RP1 (4,68 mg/kg); triángulos negros dirigidos hacia arriba, αBAFF (1,88 mg/kg); triángulos blancos dirigidos hacia arriba, αBAFF (1,88 mg/kg) más anticuerpo anti-mB7RP1 (4,68 mg/kg); y triángulos blancos dirigidos hacia abajo, el sustituto murino (5 mg/kg). El eje de las x indica la edad de los ratones (meses), y el eje de las y indica el porcentaje de ratones que mostraron proteinuria, es decir, ≥ 300 mg/dl de proteína en orina.

40 Figura 8B: Niveles de anticuerpos contra ADN bicatenario (ADNbc) en ratones NZB/NZW a los 8,5 meses de edad tratados con diversas proteínas. Los métodos se describen en el ejemplo 2. El eje de las x indica la identidad de la(s) molécula(s) con la(s) que se trataron los ratones de la siguiente manera: 1, anticuerpo anti-mB7RP1 (4,68 mg/kg); 2, αBAFF (1,88 mg/kg); 3, αBAFF (1,88 mg/kg) más anticuerpo anti-mB7RP1 (4,68 mg/kg); 4, el sustituto murino biespecífico (5 mg/kg); y 5, mIgG1 (el control de isotipo; 5 mg/kg). El eje de las y indica los niveles de anticuerpos anti-ADNbc detectados como porcentaje del control positivo. Cada punto indica datos de un único ratón.

45 Figura 9A: Niveles de IgG anti-ADNbc en ratones NZB/NZW. Los métodos se describen en el ejemplo 2. Los datos

de diversos grupos de ratones se identifican de la siguiente manera: 1, ratones que recibieron anticuerpo anti-mB7RP1 (14 mg/kg); 2, ratones que recibieron α BAFF (5,6 mg/kg); 3, ratones que recibieron una combinación de anticuerpo anti-mB7RP1 (14 mg/kg) y α BAFF (5,6 mg/kg); 4, ratones que recibieron el sustituto murino (15 mg/kg); 5, ratones que recibieron el control de isotipo mlgG (15 mg/kg); y 6, ratones que recibieron PBS. Los asteriscos encima de los carriles 1, 3 y 4 indican una diferencia significativa (*, $p < 0,05$; ***, $p < 0,0001$) entre datos en esos carriles y datos del carril 5 (mlgG).

Figura 9B: Porcentajes de ratones NZB/W F₁ en cada grupo que tienen proteinuria. Los métodos se describen en el ejemplo 2. Los datos de diversos grupos de ratones se identifican de la siguiente manera: cuadrados blancos, ratones que recibieron anticuerpo anti-mB7RP1 (14 mg/kg); triángulos negros dirigidos hacia arriba, ratones que recibieron α BAFF (5,6 mg/kg); triángulos blancos dirigidos hacia arriba, ratones que recibieron una combinación de anticuerpo anti-mB7RP1 (14 mg/kg) y α BAFF (5,6 mg/kg); triángulos blancos dirigidos hacia abajo, ratones que recibieron el sustituto murino (15 mg/kg); cuadrados negros, ratones que recibieron el control de isotipo mlgG (15 mg/kg); y círculos negros, ratones que recibieron PBS. Se detectaron diferencias significativas entre el sustituto murino frente a anticuerpo anti-mB7RP1 ($p < 0,01$), α BAFF ($p < 0,0001$) y mlgG ($p < 0,0001$). Se indica el intervalo de tiempo en el que se produjo el tratamiento.

Figura 10: Puntuaciones renales de ratones NZB/W F₁. Tal como se explica en el ejemplo 2, se extirparon los riñones cuando murió un ratón, si esto sucedió antes del final del estudio, o al final del estudio. Se determinaron puntuaciones renales tal como se describe en el ejemplo 2, indicando las puntuaciones superiores nefropatía más grave. Se muestran los promedios para cada grupo de ratones más las barras de error apropiadas. Los grupos de ratones recibieron los siguientes tratamientos: 1) anticuerpo anti-mB7RP1 (14 mg/kg), barra rellena con líneas verticales; 2) α BAFF (5,6 mg/kg), barra rellena con líneas horizontales; 3) combinación de anticuerpo anti-mB7RP1 (14 mg/kg) y α BAFF (5,6 mg/kg), barra rellena con cuadrados; 4) el sustituto murino (15 mg/kg), barra rellena con patrón de tablero de ajedrez; 5) mlgG (15 mg/kg), barra rellena con puntos blancos sobre fondo negro; y 6) PBS, barra negra. Los asteriscos indican una diferencia significativa con respecto a ratones tratados con mlgG con un valor de p de $< 0,05$ (*) o $< 0,001$ (***) .

Figura 11: Efectos de la inhibición de BAFF y/o B7RP1 sobre artritis inducida por colágeno murino. Los métodos se describen en el ejemplo 4. Los cinco grupos de ratones se trataron con sustancias de prueba indicadas de la siguiente manera: mlgG, cuadrados negros conectados por líneas continuas; PBS, cuadrados negros conectados por líneas discontinuas; anticuerpo anti-mB7RP1, círculos negros conectados por líneas discontinuas; α BAFF, círculos blancos conectados por líneas continuas; y combinación de anticuerpo anti-mB7RP1 y α BAFF, círculos negros conectados por líneas continuas. El panel superior muestra el porcentaje de incidencia de artritis de los diversos grupos, y el panel inferior muestra las puntuaciones de artritis promedio de los grupos. La flecha vertical dirigida hacia abajo en cada panel indica el momento de la segunda inmunización con colágeno bovino.

Breve descripción de la lista de secuencias

NÚMERO DE LISTA DE SECUENCIAS	DESCRIPCIÓN
SEQ ID NO: 1	Secuencia de aminoácidos de un péptido de unión a BAFF
SEQ ID NO: 2	Secuencia de aminoácidos de un péptido de unión a BAFF
SEQ ID NO: 3	Secuencia de aminoácidos de un péptido de unión a BAFF
SEQ ID NO: 4	Secuencia de aminoácidos de un ligador
SEQ ID NO: 5	Secuencia de aminoácidos de un ligador
SEQ ID NO: 6	Secuencia de aminoácidos de un ligador
SEQ ID NO: 7	Secuencia de aminoácidos de un ligador
SEQ ID NO: 8	Secuencia de aminoácidos de una CDR1 de cadena ligera
SEQ ID NO: 9	Secuencia de aminoácidos de una CDR2 de cadena ligera
SEQ ID NO: 10	Secuencia de aminoácidos de una CDR3 de cadena ligera
SEQ ID NO: 11	Secuencia de aminoácidos de una CDR1 de cadena pesada
SEQ ID NO: 12	Secuencia de aminoácidos de una CDR2 de cadena pesada
SEQ ID NO: 13	Secuencia de aminoácidos de una CDR3 de cadena pesada
SEQ ID NO: 14	Secuencia de aminoácidos de una región variable de cadena ligera
SEQ ID NO: 15	Secuencia de aminoácidos de una región variable de cadena pesada
SEQ ID NO: 16	Secuencia de aminoácidos de una cadena pesada de la molécula biespecífica para BAFF/B7RP1 P71619
SEQ ID NO: 17	Secuencia de aminoácidos de una cadena pesada de la molécula biespecífica para BAFF/B7RP1 P74293
SEQ ID NO: 18	Secuencia de aminoácidos de una cadena pesada de la molécula biespecífica para BAFF/B7RP1 P74294
SEQ ID NO: 19	Secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de inmunoglobulina de un anticuerpo de IgG anti-huB7RP1

SEQ ID NO: 20	Secuencia de aminoácidos que precede a una CDR1de cadena pesada
SEQ ID NO: 21	Secuencia de aminoácidos que precede a una CDR2 de cadena pesada
SEQ ID NO: 22	Secuencia de aminoácidos que sigue a CDR3 de cadena pesada
SEQ ID NO: 23	Secuencia de aminoácidos que sigue a CDR3 de cadena ligera
SEQ ID NO: 24	Ligador
SEQ ID NO: 25	Secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de inmunoglobulina de un anticuerpo de IgG anti-B7RP1
SEQ ID NO: 26	Secuencia de aminoácidos de cadena pesada de constructo P71617
SEQ ID NO: 27	Secuencia de aminoácidos de cadena ligera de constructo P71618
SEQ ID NO: 28	Secuencia de aminoácidos de cadena pesada de constructo P71620
SEQ ID NO: 29	Secuencia de aminoácidos de la cadena pesada del constructo P71621
SEQ ID NO: 30	Secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de constructo P71622
SEQ ID NO: 31	Secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de constructo P71623
SEQ ID NO: 32	Secuencia de aminoácidos de pepticuerpo α BAFF
SEQ ID NO: 33	Secuencia de aminoácidos de región Fc de IgG1 humana
SEQ ID NO: 34	Secuencia de aminoácidos de región Fc de IgG2 humana
SEQ ID NO: 35	Secuencia de aminoácidos de región Fc de IgG3 humana
SEQ ID NO: 36	Secuencia de aminoácidos de región Fc de IgG4 humana
SEQ ID NO: 37	Secuencia de aminoácidos de un ligador
SEQ ID NO: 38	Secuencia de aminoácidos de un ligador
SEQ ID NO: 39	Secuencia de aminoácidos de un ligador
SEQ ID NO: 40	Secuencia de aminoácidos de un ligador
SEQ ID NO: 41	Secuencia de ácido nucleico que codifica la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1
SEQ ID NO: 42	Secuencia de ácido nucleico que codifica la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4
SEQ ID NO: 43	Secuencia de ácido nucleico que codifica la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5
SEQ ID NO: 44	Secuencia de ácido nucleico que codifica la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6
SEQ ID NO: 45	Secuencia de ácido nucleico que codifica la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7
SEQ ID NO: 46	Secuencia de ácido nucleico que codifica la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8
SEQ ID NO: 47	Secuencia de ácido nucleico que codifica la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9
SEQ ID NO: 48	Secuencia de ácido nucleico que codifica la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10
SEQ ID NO: 49	Secuencia de ácido nucleico que codifica la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11
SEQ ID NO: 50	Secuencia de ácido nucleico que codifica la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 12
SEQ ID NO: 51	Secuencia de ácido nucleico que codifica la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 13
SEQ ID NO: 52	Secuencia de ácido nucleico que codifica la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 14
SEQ ID NO: 53	Secuencia de ácido nucleico que codifica la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 15
SEQ ID NO: 54	Secuencia de ácido nucleico que codifica la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 16
SEQ ID NO: 55	Secuencia de ácido nucleico que codifica la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 17
SEQ ID NO: 56	Secuencia de ácido nucleico que codifica la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 18
SEQ ID NO: 57	Secuencia de ácido nucleico que codifica la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 19
SEQ ID NO: 58	Secuencia de ácido nucleico que codifica la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 24
SEQ ID NO: 59	Secuencia de ácido nucleico que codifica la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 25
SEQ ID NO: 60	Secuencia de ácido nucleico que codifica la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 26
SEQ ID NO: 61	Secuencia de ácido nucleico que codifica la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 27
SEQ ID NO: 62	Secuencia de ácido nucleico que codifica la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 28
SEQ ID NO: 63	Secuencia de ácido nucleico que codifica la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 29
SEQ ID NO: 64	Secuencia de ácido nucleico que codifica la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 30
SEQ ID NO: 65	Secuencia de ácido nucleico que codifica la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 31
SEQ ID NO: 66	Secuencia de ácido nucleico que codifica la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 32
SEQ ID NO: 67	Secuencia de ácido nucleico que codifica la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 33
SEQ ID NO: 68	Secuencia de ácido nucleico que codifica la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 34
SEQ ID NO: 69	Secuencia de ácido nucleico que codifica la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 35
SEQ ID NO: 70	Secuencia de ácido nucleico que codifica la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 36
SEQ ID NO: 71	Secuencia de aminoácidos de un ligador
SEQ ID NO: 72	Secuencia de aminoácidos de un ligador

Descripción detallada

En el presente documento se proporcionan proteínas biespecíficas que se unen a, e inhiben, tanto factor de activación de células B (BAFF; también conocido como BLYS, TALLI, THANK o TNFSF13B) como proteína 1 relacionada con B7 (B7RP1; también conocida como ligando de ICOS, ICOSL, LICOS, homólogo 2 de B7, B7H2 y GL50), ácidos nucleicos que codifican estas proteínas biespecíficas, y métodos de producción y uso de estas proteínas. Las proteínas biespecíficas pueden inhibir tanto la proliferación de células B mediada por BAFF como la proliferación de células T mediada por B7RP1. En otro aspecto, las proteínas biespecíficas pueden inhibir la unión

de B7RP1 a células T. Una proteína biespecífica de este tipo puede ser un anticuerpo de IgG que comprende dos cadenas pesadas de inmunoglobulina diferentes y dos cadenas ligeras de inmunoglobulina diferentes, en el que un par de cadena pesada/cadena ligera se une a BAFF y el otro se une a B7RP1. Alternativamente, la parte de unión a B7RP1 de la proteína biespecífica puede comprender un anticuerpo de IgG que incluye dos cadenas pesadas idénticas y dos cadenas ligeras idénticas, y la parte de unión a BAFF de la proteína biespecífica puede comprender uno o más péptidos de unión a BAFF, que pueden fusionarse al anticuerpo anti-B7RP1, opcionalmente a través del extremo N-terminal de la cadena pesada o ligera de inmunoglobulina, el extremo carboxilo-terminal de la cadena pesada de inmunoglobulina, y/o dentro de la región CH2 y/o CH3 de la cadena pesada de inmunoglobulina.

Definiciones

10 Un “anticuerpo”, tal como se usa en el presente documento, es una proteína que comprende una región variable de inmunoglobulina de cadena pesada y/o ligera.

Una proteína “biespecífica”, tal como se usa en el presente documento, es una proteína que puede unirse específicamente a dos moléculas diferentes, que pueden ser proteínas; por ejemplo, una proteína biespecífica que puede unirse tanto a BAFF como a B7RP1.

15 Un paciente está recibiendo tratamiento “simultáneo” con dos o más agentes terapéuticos cuando el paciente recibe los dos o más agentes terapéuticos durante el mismo periodo de tiempo general, opcionalmente exactamente en el mismo momento. Por ejemplo, si a un paciente se le administran dosis de un agente terapéutico diariamente de manera continua y también se le administran dosis de otro agente terapéutico una vez al mes de manera continua, el paciente estará recibiendo estos dos fármacos simultáneamente. De manera similar, un paciente al que se le administran dosis de dos agentes terapéuticos diferentes, cada uno administrado cada dos semanas, pero no en el mismo día, estará recibiendo tratamiento simultáneo con los dos agentes terapéuticos. Además, un paciente que recibe un agente terapéutico de manera continua una vez por semana y otro agente terapéutico una vez al día únicamente durante tres días estará recibiendo tratamiento durante un corto periodo de tiempo con estos dos agentes terapéuticos.

25 Tal como se usa en el presente documento, una “región Fc” es un dímero que consiste en dos cadenas de polipéptido unidas por uno o más enlaces disulfuro, comprendiendo cada cadena parte o la totalidad de un dominio de bisagra más un dominio CH2 y uno CH3. Cada una de las cadenas de polipéptido se denomina “cadena de polipéptido de Fc”. Más específicamente, las regiones Fc contempladas para su uso con la presente invención son regiones Fc de IgG, que pueden ser regiones Fc de IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4 de mamífero, por ejemplo humanas. Entre las regiones Fc de IgG1 humana se conocen al menos dos tipos alélicos. Las secuencias de aminoácidos de una cadena de polipéptido de Fc pueden variar de las de un polipéptido de Fc de mamífero en no más de 20, 15, 12, 10, 8, 5 ó 3 sustituciones, inserciones o deleciones de un único aminoácido con respecto a una secuencia de aminoácidos de polipéptido de Fc de mamífero. Alternativa o adicionalmente, la secuencia de aminoácidos de una cadena de polipéptido de Fc puede variar con respecto a la secuencia de una cadena de polipéptido de Fc conocida o que se produce de manera natural en no más de 10 inserciones, deleciones o sustituciones de un único aminoácido por cada 100 aminoácidos de secuencia. Tales variaciones pueden ser “alteraciones heterodimerizantes” que facilitan la formación de heterodímeros con respecto a homodímeros. Al hacer referencia a posiciones particulares dentro de una cadena de polipéptido de Fc, se usa el sistema de numeración de EU (Edelman *et al* (1969), Proc. Natl. Acad. Sci. 63: 78-85), tal como se ilustra en la alineación de cadenas de polipéptido de Fc de IgG humana en la tabla 1 a continuación.

Tabla 1: Alineación de secuencias de aminoácidos de regiones Fc de IgG humana

```

IgG1 -----
IgG2 -----
IgG3 ELKTP LGDTTHTCPRCPEPKS CDTPPPCPRCPEPKS CDTPPPCPRC
IgG4 -----

          225      235      245      255      265      275
          *        *        *        *        *        *
IgG1 EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF
IgG2 ERKCCVE--CPPCPAPPVA-GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQF
IgG3 EPKSCDTPPPCPRCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQF
IgG4 ESKYG--PPCPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSEQEDPEVQF

          285      295      305      315      325      335
          *        *        *        *        *        *
IgG1 NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
IgG2 NWYVDGMEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKT
IgG3 KWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTFRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
IgG4 NWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSI EKT

          345      355      365      375      385      395
          *        *        *        *        *        *
IgG1 ISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTP
IgG2 ISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTP
IgG3 ISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESSGQPENNYNTTP
IgG4 ISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTP

          405      415      425      435      445
          *        *        *        *        *
IgG1 PVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:33)
IgG2 PMLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:34)
IgG3 PMLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNIFSCSV MHEALHNRFTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:35)
IgG4 PVLDS DGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSLGK (SEQ ID NO:36)

```

En algunas posiciones, pueden producirse polimorfismos que se producen de manera natural. Por ejemplo, la metionina en la posición 282 en la secuencia de IgG2 facilitada anteriormente es más normalmente una valina en secuencias de IgG2 que se producen de manera natural. De manera similar, la tirosina en la posición 296 en una secuencia de IgG3 también puede ser una fenilalanina.

Las "alteraciones heterodimerizantes" se refieren generalmente a alteraciones en las regiones CH3 de dos cadenas pesadas de IgG diferentes que facilitan la formación de dímeros de cadena pesada heterodiméricos, es decir, cadenas pesadas dimerizadas que no tienen secuencias de aminoácidos idénticas. Las alteraciones heterodimerizantes pueden ser asimétricas, es decir, una cadena pesada que tiene una determinada alteración puede emparejarse con otra cadena pesada que tiene una alteración diferente. Estas alteraciones facilitan la heterodimerización y desfavorecen la homodimerización. Un ejemplo de tales alteraciones heterodimerizantes emparejadas son las denominadas sustituciones de "protuberancias y orificios". Véase, por ejemplo, la patente estadounidense 7.695.936 y la publicación de solicitud de patente estadounidense 2003/0078385. Tal como se usa en el presente documento, un par de cadena pesada-cadena pesada que contiene un par de sustituciones de protuberancias y orificios, contiene una sustitución en una cadena pesada y otra sustitución en la otra cadena pesada. Por ejemplo, se ha encontrado que las siguientes sustituciones de protuberancias y orificios aumentan la formación de heterodímeros en comparación con lo encontrado con cadenas pesadas sin modificar: 1) Y407T en una cadena y T366Y en la otra; 2) Y407A en una cadena y T366W en la otra; 3) F405A en una cadena y T394W en la otra; 4) F405W en una cadena y T394S en la otra; 5) Y407T en una cadena y T366Y en la otra; 6) T366Y y F405A en una cadena y T394W y Y407T en la otra; 7) T366W y F405W en una cadena y T394S y Y407 A en la otra; 8) F405W y Y407A en una cadena y T366W y T394S en la otra; y 9) T366W en un polipéptido de Fc y T366S, L368A y Y407V en el otro. Tal como se usa en el presente documento, las mutaciones en un polipéptido de Fc se indican de la siguiente manera. El aminoácido (usando el código de una letra) normalmente presente en una posición dada en la región CH3 usando el sistema de numeración de EU (que se presenta en Edelman *et al* (1969), Proc. Natl. Acad. Sci. 63: 78-85) va seguido por el número de posición de EU, que va seguido por el aminoácido alternativo que está presente en esa posición. Por ejemplo, Y407T significa que la tirosina normalmente presente en la posición de EU 407 se sustituye por una treonina. Por motivos de claridad, en la tabla 1 a continuación se ilustra el sistema de numeración de EU. Alternativa o adicionalmente a tales alteraciones, sustituciones que crean nuevos puentes disulfuro pueden facilitar la formación de heterodímeros. Véase, por ejemplo, la publicación de solicitud de patente estadounidense 2003/0078385. Tales alteraciones en una región Fc de IgG1 incluyen, por ejemplo, las siguientes sustituciones: Y349C en una cadena de polipéptido de Fc y S354C en la otra; Y349C en una cadena de polipéptido de Fc y E356C en la otra; Y349C en una cadena de polipéptido de Fc y E357C en la otra; L351C en una cadena de polipéptido de Fc y S354C en la otra; T394C en una cadena de polipéptido de Fc y E397C en la otra; o D399C en una cadena de polipéptido de Fc y K392C en la otra. De manera similar, sustituciones que cambian la carga de uno o más residuos, por ejemplo, en la superficie de contacto CH3-CH3, pueden potenciar la formación de heterodímeros tal como se explica en el documento WO 2009/089004. Tales sustituciones se denominan en el

presente documento “sustituciones de par de cargas”, y una región Fc que contiene un par de sustituciones de par de cargas contiene una sustitución en una cadena pesada y una sustitución diferente en la otra. Los ejemplos generales de sustituciones de par de cargas incluyen los siguientes: 1) R409D, R409E, K409D o K409E en una cadena más D399K o D399R en la otra; 2) N392D, N392E, K392D o K392E en una cadena más D399K o D399R en la otra; 3) K439D o K439E en una cadena más E356K, E356R, D356K o D356R en la otra; y 4) K370D o K370E en una cadena más E357K o E357R en la otra. Además, las sustituciones Q355D, Q355E, R355D, R355E, K360D o K360R en ambas cadenas pueden estabilizar heterodímeros cuando se usan con otras alteraciones heterodimerizantes. Pueden usarse sustituciones de par de cargas específicas o bien solas o bien con otras sustituciones de par de cargas. Los ejemplos específicos de pares individuales de sustituciones de par de cargas y combinaciones de las mismas incluyen las siguientes: 1) K409E en una cadena más D399K en la otra; 2) K409E en una cadena más D399R en la otra; 3) K409D en una cadena más D399K en la otra; 4) K409D en una cadena más D399R en la otra; 5) K392E en una cadena más D399R en la otra; 6) K392E en una cadena más D399K en la otra; 7) K392D en una cadena más D399R en la otra; 8) K392D en una cadena más D399K en la otra; 9) K409D y K360D en una cadena más D399K y E356K en la otra; 10) K409D y K370D en una cadena más D399K y E357K en la otra; 11) K409D y K392D en una cadena más D399K, E356K y E357K en la otra; 12) K409D y K392D en una cadena y D399K en la otra; 13) K409D y K392D en una cadena más D399K y E356K en la otra; 14) K409D y K392D en una cadena más D399K y D357K en la otra; 15) K409D y K370D en una cadena más D399K y D357K en la otra; 16) D399K en una cadena más K409D y K360D en la otra; y 17) K409D y K439D en una cadena más D399K y E356K en la otra. Cualquiera de estas alteraciones heterodimerizantes puede ser parte de una cadena pesada de inmunoglobulina IgG tal como se describe en el presente documento.

Un anticuerpo o proteína “humano”, tal como se usa en el presente documento, es un anticuerpo o proteína codificado por una secuencia de ácido nucleico de origen humano. Un anticuerpo o proteína humano puede producirse en células no humanas cultivadas o *in vivo* en un organismo transgénico en el que se ha introducido una molécula de ácido nucleico que codifica el anticuerpo o proteína humano. Alternativamente, un anticuerpo o proteína humano puede producirse en células humanas cultivadas o en un ser humano *in vivo*.

Un “anticuerpo de IgG”, tal como se usa en el presente documento, es un anticuerpo que consiste esencialmente en los dominios de inmunoglobulina presentes en la mayoría de los anticuerpos de IgG que se producen de manera natural, es decir, una cadena pesada de inmunoglobulina que comprende una región variable de cadena pesada (VH), una primera región constante de cadena pesada (CH1), una región de bisagra, una segunda región constante de cadena pesada (CH2), y una tercera región constante de cadena pesada (CH3) y una cadena ligera que comprende una región variable de cadena ligera (VL) y una región constante de cadena ligera (CL). A lo largo de la bibliografía científica se notifican numerosas secuencias de tales dominios de inmunoglobulina, por ejemplo, en SEQUENCES OF IMMUNOLOGICAL INTEREST, Public Health Service, N.I.H., Bethesda, MD, 1991. Un anticuerpo de IgG, tal como se usa en el presente documento, es un tetrámero que consiste esencialmente en dos cadenas pesadas y dos cadenas ligeras. Los anticuerpos que se producen de manera natural que sólo incluyen dos cadenas pesadas de inmunoglobulina y no cadenas ligeras de inmunoglobulina, tales como algunos encontrados en camellos y tiburones (véase, por ejemplo, Muyldermans *et al*, 2001, J. Biotechnol. 74:277-302; Desmyter *et al*, 2001, J. Biol. Chem. 276:26285-90; Streltsov *et al* (2005), Protein Science 14: 2901-2909), no son “anticuerpos de IgG” tal como se usa en el presente documento. Un anticuerpo de IgG puede ser humano o puede ser de otra especie. Además, un anticuerpo de IgG puede contener no más de 40, 35, 30, 25, 20, 15, 10 ó 5 sustituciones, inserciones y/o deleciones de un único aminoácido con respecto a la secuencia de aminoácidos de las cadenas pesada o ligera de un anticuerpo de IgG que se produce de manera natural.

Una “cadena pesada de inmunoglobulina” se refiere a una cadena pesada de un anticuerpo de IgG, IgA, IgM, IgE o IgD o variantes de la misma que contiene no más de 40, 30, 25, 20, 15, 10 ó 5 inserciones, deleciones o sustituciones de un único aminoácido con respecto a una cadena pesada de inmunoglobulina codificada por secuencias de ácido nucleico que se originan en la naturaleza. Una “cadena pesada de inmunoglobulina IgG” se limita a cadenas pesadas de anticuerpos de IgG o variantes de las mismas que contienen no más de 40, 30, 25, 20, 15, 10 ó 5 inserciones, deleciones o sustituciones de un único aminoácido con respecto a la secuencia de aminoácidos de una cadena pesada de IgG codificada por secuencias de ácido nucleico que se originan en la naturaleza. Una cadena pesada de inmunoglobulina consiste esencialmente en varias regiones o dominios diferenciados incluyendo una región VH, una región CH1, una región de bisagra, una región CH2 y una región CH3. En algunos otros isotipos, es decir, IgM e IgA, se incluyen regiones adicionales en el sentido de 3' desde la región CH3. Se describen de manera general cadenas pesadas de inmunoglobulina y las regiones incluidas en las mismas, por ejemplo, en Carayannopoulos y Capra, Immunoglobulins: Structure and Function, págs. 283-314 en FUNDAMENTAL IMMUNOLOGY, 3ª ed, Paul, ed., Raven Press, Nueva York, 1993. Además, en la técnica se conocen numerosas secuencias de subregiones de cadenas pesadas de inmunoglobulina. Véase, por ejemplo, Kabat *et al*, SEQUENCES OF PROTEINS OF IMMUNOLOGICAL INTEREST, Public Health Service N.I.H., Bethesda, MD, 1991. En algunos casos, una cadena de polipéptido que incluye una cadena pesada de inmunoglobulina más algunas secuencias distintas de inmunoglobulina se denominará en el presente documento “cadena pesada”.

Una “cadena ligera de inmunoglobulina”, tal como se usa en el presente documento, es una cadena kappa o lambda de un anticuerpo humano o un anticuerpo de otra especie. También se incluyen entre las cadenas ligeras de inmunoglobulina, tal como se usa en el presente documento, proteínas con no más de 20, 15, 10 ó 5 inserciones,

- deleciones y/o sustituciones de un único aminoácido con respecto a una cadena ligera de inmunoglobulina codificada por secuencias de ácido nucleico de origen natural. Se describen de manera general cadenas ligeras de inmunoglobulina, por ejemplo, en Carayannopoulos y Capra, *Immunoglobulins: Structure and Function*, págs. 283-314 en *FUNDAMENTAL IMMUNOLOGY*, 3ª ed, Paul, ed., Raven Press, Nueva York, 1993. Una cadena ligera de inmunoglobulina contiene una región VL y una región CL. En la técnica se conocen numerosas secuencias de estas regiones. Véase, por ejemplo, Kabat *et al*, *SEQUENCES OF PROTEINS OF IMMUNOLOGICAL INTEREST*, Public Health Service N.I.H., Bethesda, MD, 1991. En algunos casos, una cadena de polipéptido que incluye una cadena ligera de inmunoglobulina más algunas secuencias distintas de inmunoglobulina se denominará en el presente documento “cadena ligera”.
- Una “región variable de inmunoglobulina”, tal como se usa en el presente documento, es una región VH o VL, que puede ser de origen humano o de otra especie. Se describen de manera general regiones variables de inmunoglobulina, por ejemplo, en Carayannopoulos y Capra, *Immunoglobulins: Structure and Function*, págs. 283-314 en *FUNDAMENTAL IMMUNOLOGY*, 3ª ed, Paul, ed., Raven Press, Nueva York, 1993. También se incluyen entre las regiones variables de inmunoglobulina, tal como se usa en el presente documento, proteínas con no más de 20, 15, 10 ó 5 inserciones, deleciones y/o sustituciones de un único aminoácido con respecto a una región variable de inmunoglobulina codificada por secuencias de ácido nucleico de origen natural. Una región variable de inmunoglobulina contiene tres regiones hipervariables, conocidas como región determinante de la complementariedad 1 (CDR1), región determinante de la complementariedad 2 (CDR2) y región determinante de la complementariedad 3 (CDR3). Estas regiones forman el sitio de unión a antígeno de un anticuerpo. Las CDR están incorporadas dentro de las regiones de marco menos variables (FR1-FR4). El orden de estas subregiones dentro de una región variable es de la siguiente manera: FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4. En la técnica se conocen numerosas secuencias de regiones variables de inmunoglobulina. Véase, por ejemplo, Kabat *et al*, *SEQUENCES OF PROTEINS OF IMMUNOLOGICAL INTEREST*, Public Health Service N.I.H., Bethesda, MD, 1991.
- Las CDR pueden estar ubicadas en una secuencia de región VH de la siguiente manera. CDR1 comienza aproximadamente en el residuo 31 de la región VH madura y habitualmente tiene aproximadamente 5-7 aminoácidos de longitud, y casi siempre va precedida por Cys-Xxx-Xxx-Xxx-Xxx-Xxx-Xxx-Xxx (SEQ ID NO: 20) (en la que “Xxx” es cualquier aminoácido). El residuo que sigue a CDR1 de cadena pesada es casi siempre un triptófano, con frecuencia un Trp-Val, un Trp-Ile o un Trp-Ala. Casi siempre hay catorce aminoácidos entre el último residuo en CDR1 y el primero en CDR2, y CDR2 contiene normalmente de 16 a 19 aminoácidos. CDR2 puede ir precedida inmediatamente por Leu-Glu-Trp-Ile-Gly (SEQ ID NO: 21) y puede ir seguida inmediatamente por Lys/Arg-Leu/Ile/Val/Phe/Thr/Ala-Thr/Ser/Ile/Ala. Otros aminoácidos pueden preceder o seguir a CDR2. Casi siempre hay treinta y dos aminoácidos entre el último residuo en CDR2 y el primero en CDR3, y CDR3 puede tener desde aproximadamente 3 hasta 25 residuos de longitud. Un Cys-Xxx-Xxx precede casi siempre a CDR3, y un Trp-Gly-Xxx-Gly (SEQ ID NO: 22) sigue casi siempre a CDR3.
- Las CDR de cadena ligera pueden estar ubicadas en una región VL de la siguiente manera. CDR1 comienza aproximadamente en el residuo 24 del anticuerpo maduro y habitualmente tiene aproximadamente de 10 a 17 residuos de longitud. Casi siempre va precedida por una Cys. Casi siempre hay 15 aminoácidos entre el último residuo de CDR1 y el primer residuo de CDR2, y CDR2 casi siempre tiene 7 residuos de longitud. CDR2 va normalmente precedida por Ile-Tyr, Val-Tyr, Ile-Lys o Ile-Phe. Casi siempre hay 32 residuos entre CDR2 y CDR3, y CDR3 habitualmente tiene aproximadamente de 7 a 10 aminoácidos de longitud. CDR3 casi siempre va precedida por Cys y habitualmente va seguida por Phe-Gly-Xxx-Gly (SEQ ID NO: 23).
- Un “ligador”, tal como se usa en el presente documento, es un péptido que une dos polipéptidos. Un ligador puede tener desde 1-80 aminoácidos de longitud. Un ligador puede tener 2-40, 3-30 ó 3-20 aminoácidos de longitud. Un ligador puede ser un péptido con no más de 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6 ó 5 aminoácidos de longitud. Un ligador puede tener 5-25, 5-15, 10-20 ó 20-30 aminoácidos de longitud. Un ligador puede tener aproximadamente, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 ó 30 aminoácidos de longitud. En muchos casos, los ligadores carecen de residuos de cisteína libre (es decir, y por tanto no participan en enlaces disulfuro) y tampoco contienen sitios de N-glicosilación (es decir, Asn-Xxx-Ser/Thr, en los que X puede ser cualquier aminoácido excepto prolina).
- Un “peptidocuerpo”, tal como se usa en el presente documento, es uno o más péptidos biológicamente activos fusionados a una región Fc. Shimamoto *et al* (2012), *mAbs* 4(5): 586-591.
- Un “péptido”, tal como se usa en el presente documento, es un polipéptido que consiste en una secuencia de aminoácidos corta, que puede o no estar glicosilada y/o contener aminoácidos modificados. Un péptido puede tener desde 2 hasta 75 aminoácidos de longitud; por ejemplo, 3-60, 3-50, 3-40, 3-30 ó 3-20 aminoácidos de longitud. Un péptido puede tener 5-25, 5-15, 10-20 ó 20-30 aminoácidos de longitud. Un péptido puede tener aproximadamente 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 ó 30 aminoácidos de longitud.
- Una “cantidad terapéuticamente eficaz” de un fármaco usado para tratar una enfermedad es una cantidad que puede reducir la gravedad de una enfermedad, reducir la gravedad de uno o más síntomas asociados con la enfermedad o su tratamiento, o retrasar la aparición de síntomas más graves o una enfermedad más grave que pueden producirse

con cierta frecuencia tras el estado tratado.

El "tratamiento" de cualquier enfermedad mencionada en el presente documento abarca un alivio de al menos un síntoma de la enfermedad, una reducción de la gravedad de la enfermedad, o el retraso o la prevención de progresión de la enfermedad para dar síntomas más graves que, en algunos casos, pueden acompañar a la enfermedad o conducir a al menos otra enfermedad. No es necesario que el tratamiento signifique que la enfermedad se cura totalmente. Un agente terapéutico útil sólo necesita reducir la gravedad de una enfermedad, reducir la gravedad de uno o más síntomas asociados con la enfermedad o su tratamiento, o retrasar la aparición de síntomas más graves o una enfermedad más grave que pueden producirse con cierta frecuencia tras el estado tratado. Por ejemplo, si la enfermedad es una enfermedad inflamatoria del intestino, un agente terapéutico usado como tratamiento puede reducir el número de sitios de inflamación diferenciados en el intestino o la extensión total del intestino afectado. Puede reducir el dolor y/o el hinchamiento, reducir síntomas tales como diarrea, estreñimiento o vómitos, y/o prevenir la perforación del intestino. El estado de un paciente puede evaluarse mediante técnicas convencionales tales como una radiografía realizada tras un enema de bario o enteroclasia, endoscopia, colonoscopia y/o una biopsia. Los procedimientos adecuados pueden variar según el estado y los síntomas del paciente. De manera similar, si la enfermedad tratada es lupus eritematoso sistémico (SLE), la actividad de enfermedad puede evaluarse usando el índice SLEDAI para la puntuación, tal como se explica a continuación.

Proteínas biespecíficas que se unen a BAFF y B7RP1

En el presente documento se dan a conocer proteínas biespecíficas que se unen a B7RP1 y BAFF y/o que pueden inhibir la proliferación de células T mediada por B7RP1 y la proliferación de células B mediada por BAFF *in vitro*. Las proteínas BAFF y B7RP1 a las que se une una proteína biespecífica tal como se describe en el presente documento pueden ser proteínas humanas y/o pueden ser proteínas de otra especie tal como macaco cangrejero, macaco rhesus, chimpancé, ratón y/o conejo, entre otras. Una proteína biespecífica tal como se describe en el presente documento puede unirse, por ejemplo, a proteínas B7RP1 y BAFF tanto humanas (*Homo sapiens*) como de macaco cangrejero (*Macaca fascicularis*).

Estas proteínas biespecíficas pueden ser anticuerpos de IgG biespecíficos en los que la parte de unión a B7RP1 y la parte de unión a BAFF consisten cada una esencialmente en una cadena pesada de inmunoglobulina IgG y una cadena ligera de inmunoglobulina. Por tanto, un anticuerpo biespecífico de este tipo contiene dos cadenas pesadas de inmunoglobulina diferentes y dos cadenas ligeras de inmunoglobulina diferentes. En conjunto, estos dos pares de cadenas pesada y ligera de inmunoglobulina forman un anticuerpo de IgG biespecífico completo. En la técnica se conocen anticuerpos de IgG biespecíficos, y también se conocen varios otros formatos para anticuerpos biespecíficos. Véase, por ejemplo, Kontermann, Bispecific Antibodies: Developments and Current Perspectives, págs. 1-28 en BISPECIFIC ANTIBODIES, Kontermann, ed., Springer-Verlag, Berlín, Heidelberg, 2011. En el presente documento se contemplan anticuerpos que pueden unirse a BAFF y B7RP1, independientemente del formato. Los anticuerpos de IgG biespecíficos pueden ser humanos, humanizados o quiméricos y pueden ser del isotipo IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4. Los anticuerpos de IgG biespecíficos dados a conocer en el presente documento pueden conjugarse con otros restos. En la técnica se conocen secuencias de aminoácidos de anticuerpos anti-BAFF y anti-B7RP1. Véanse, por ejemplo, la patente estadounidense 7.737.111 y la publicación de solicitud de patente estadounidense US 2011/0117093. Tales anticuerpos biespecíficos pueden comprender "alteraciones heterodimerizantes", tal como se definió anteriormente, incluyendo sustituciones de par de cargas, que facilitan la formación de un anticuerpo de IgG biespecífico heterotetramérico.

Las proteínas biespecíficas descritas en el presente documento pueden ser proteínas de fusión que comprenden un anticuerpo que se une a B7RP1, que comprende una cadena pesada de inmunoglobulina IgG y una cadena ligera de inmunoglobulina, y un péptido que se une a BAFF. El péptido de unión a BAFF puede estar presente en una o múltiples copias, tal como dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho o hasta 16 copias. El péptido de unión a BAFF puede unirse a proteínas BAFF de especies tales como ratón, macaco cangrejero y/o seres humanos, entre muchas otras especies posibles. El anticuerpo puede ser un anticuerpo de IgG anti-B7RP1, opcionalmente un anticuerpo humano o humanizado que se une a B7RP1 humana y/o de macaco cangrejero. Un ligador dado a conocer en el presente documento puede unirse al extremo C-terminal de la cadena pesada del anticuerpo de IgG anti-B7RP1, seguido por un primer péptido de unión a BAFF, otro ligador y un segundo péptido de unión a BAFF. Un tercer, cuarto, quinto, sexto, séptimo, octavo o hasta decimosexto péptido de unión a BAFF puede seguir a estos dos, opcionalmente intercalados con ligadores. Alternativa o adicionalmente, pueden insertarse uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete u ocho péptidos de unión a BAFF en otra parte en el anticuerpo anti-B7RP1, por ejemplo en el extremo N-terminal de la cadena pesada de inmunoglobulina o cadena ligera de inmunoglobulina o en una región de bucle en la región CH2 o CH3. El anticuerpo de IgG puede ser un anticuerpo de mamífero, tal como un anticuerpo humano o murino. El anticuerpo anti-B7RP1 puede ser un anticuerpo de IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4 humano o humanizado. En tales proteínas de fusión biespecíficas que comprenden un anticuerpo de IgG anti-B7RP1, la proteína biespecífica puede comprender una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 17 o SEQ ID NO: 18 y una cadena ligera de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 19. Se contemplan variantes que comprenden una cadena pesada que tiene una secuencia de aminoácidos que contiene no más de 30, 25, 20, 15, 10, 5 ó 3 inserciones, deleciones o sustituciones de un único aminoácido con respecto a SEQ ID NO: 17 ó 18. De manera similar, se contemplan variantes que comprenden una cadena ligera de inmunoglobulina que tiene una secuencia de aminoácidos que contiene no más de 20, 15, 10, 8, 7,

5 ó 3 inserciones, deleciones o sustituciones o un único aminoácido con respecto a SEQ ID NO: 19. Tales proteínas biespecíficas pueden ser tetrámeros que comprenden dos polipéptidos que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 17 ó 18 o una variante de las mismas y dos cadenas ligeras que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 19 o una variante de la misma.

5 Una parte de péptido de unión a BAFF de una proteína de fusión biespecífica tal como se describió anteriormente puede comprender la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 3. Tales péptidos de unión a BAFF se describen en la patente estadounidense 7.737.111. Puede haber una, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez, once, doce, trece, catorce, quince o dieciséis copias de un péptido de unión a BAFF de este tipo presentes en la proteína biespecífica. Un péptido de unión a BAFF puede unirse al extremo carboxilo del anticuerpo anti-B7RP1, por ejemplo, a través de un ligador. Por ejemplo, el extremo carboxilo de un anticuerpo de IgG anti-B7RP1 puede ir seguido por un ligador que tiene, por ejemplo, la secuencia de aminoácidos de Gly-Gly-Gly-Gly (SEQ ID NO: 4). Los ejemplos de otros ligadores adecuados incluyen Gly-Gly, Gly-Gly-Gly, Gly-Gly-Gly-Ser (SEQ ID NO: 37), Gly-Gly-Gly-Pro (SEQ ID NO: 38), Gly-Gly-Gly-Gln (SEQ ID NO: 39) y Gly-Gly-Gly-Gly-Gly (SEQ ID NO: 40), entre muchos otros. Este ligador puede ir seguido por un péptido de unión a BAFF. El péptido de unión a BAFF puede ir seguido por otro ligador que comprende, por ejemplo, la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7 o SEQ ID NO: 24. También puede usarse otro ligador. Este ligador puede ir seguido por otro péptido de unión a BAFF que comprende, por ejemplo, la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1.

En las proteínas de fusión biespecíficas descritas justo anteriormente o en los anticuerpos de IgG heterotetraméricos biespecíficos descritos anteriormente, una región VL puede contener una CDR1, una CDR2 y una CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9 y SEQ ID NO: 10, respectivamente. Una CDR1, CDR2 y CDR3 de región VH pueden comprender las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12 y SEQ ID NO: 13, respectivamente. Una región VL del anticuerpo de IgG dado a conocer en el presente documento puede comprender la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 14 o una variante de la misma, y la región VH puede comprender la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 15 o una variante de la misma. Tales secuencias variantes pueden comprender no más de 10 deleciones, inserciones de sustituciones de un único aminoácido por cada 100 aminoácidos con respecto a una secuencia de referencia.

Proteínas que comprenden un ligador

En el presente documento se proporcionan ligadores que tienen las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 5, 6 ó 7 que confieren propiedades físicas favorables a una proteína que las contiene. Tal como se muestra en el ejemplo 1 a continuación, el uso de dos ligadores particulares, es decir, los que tienen las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 6 y SEQ ID NO: 7, tuvo efectos positivos sobre propiedades tales como expresión, estabilidad y viscosidad de una molécula biespecífica. Por tanto, una variedad de proteínas que contienen estos ligadores pueden tener tales propiedades favorables en comparación con proteínas similares que contienen otros ligadores.

Usos terapéuticos de proteínas biespecíficas

Las proteínas biespecíficas que se unen a BAFF y B7RP1 descritas en el presente documento pueden usarse como agentes terapéuticos para una variedad de indicaciones, particularmente estados impulsados por auto-anticuerpos y/o estados mediados tanto por células T como por células B. Tales estados incluyen, por ejemplo, SLE, lupus, nefritis, vasculitis positiva para ANCA, artritis reumatoide (RA), dermatomiositis, polimiositis, enfermedades gastrointestinales tales como enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa y enfermedad celiaca, estados cutáneos tales como pénfigo, penfigoide y lupus eritematoso cutáneo subagudo (SCLE), enfermedades del sistema nervioso tales como esclerosis múltiple y polineuropatía desmielinizante inflamatoria crónica (CIDP), enfermedades neuromusculares tales como miastenia grave, enfermedades que afectan a los riñones tales como síndrome de Goodpasture y glomerulonefritis, estados hematológicos tales como anemia hemolítica autoinmunitaria (AIHA), púrpura trombocitopénica idiopática (ITP) y neutropenia autoinmunitaria, estados hepáticos tales como hepatitis activa crónica y cirrosis biliar primaria, síndrome de Sjogren, esclerosis sistémica, y estados endocrinos incluyendo tiroiditis de Hashimoto, enfermedad de Graves, enfermedad de Addison y fallo autoinmunitario endocrino múltiple (que incluye comúnmente diabetes, hipotiroidismo, enfermedad de Addison y fallo gonadal). Puede administrarse una cantidad terapéuticamente eficaz de una proteína biespecífica tal como se describe en el presente documento a un paciente que padece cualquiera de estos estados para tratar el estado.

Puede usarse una proteína biespecífica que puede inhibir la proliferación de células B mediada por BAFF y la proliferación de células T mediada por B7RP1 dada a conocer en el presente documento para tratar a un paciente que padece SLE. SLE es una enfermedad autoinmunitaria de etiología desconocida marcada por autorreactividad a autoantígenos nucleares. Sus manifestaciones clínicas son tan diversas que resulta cuestionable si es realmente una única enfermedad o un grupo de estados relacionados. Kotzin (1996) Systemic lupus erythematosus. Cell 85: 303-306; Rahman e Isenberg (2008), Systemic lupus erythematosus. N. Engl. J. Med 358: 929-939. Los síntomas pueden incluir los siguientes: síntomas generales tales como malestar, fatiga, fiebres, anorexia y pérdida de peso; diversos síntomas cutáneos incluyendo exantemas faciales transitorios y agudos en adultos, enfermedad bullosa, y exantemas crónicos y desfigurantes de la cabeza y el cuello; artritis; dolor y/o debilidad muscular; síntomas cardiovasculares tales como engrosamiento de la válvula mitral, vegetaciones, regurgitación, estenosis, pericarditis y cardiopatía isquémica, algunos de los cuales pueden culminar en accidente cerebrovascular, enfermedad embólica,

insuficiencia cardiaca, endocarditis infecciosa o fallo de válvula; nefritis, que es una causa principal de morbilidad en SLE; síntomas neurológicos incluyendo disfunción cognitiva, depresión, psicosis, coma, trastornos convulsivos, migrañas y otros síndromes de cefalea, meningitis aséptica, corea, accidente cerebrovascular y neuropatías craneales; síntomas hematológicos incluyendo leucopenia, trombocitopenia, serositis, anemia, anomalías de coagulación, esplenomegalia y linfadenopatía; y diversas anomalías gastrointestinales. *Id*; Vratsanos *et al.*, "Systemic Lupus Erythematosus", capítulo 39 en *Samter's Immunological Diseases*, 6ª edición, Austen *et al.*, eds., Lippincott Williams & Wilkins, Filadelfia, PA, 2001. La intensidad de los síntomas varía ampliamente, al igual que el curso de la enfermedad. SLE puede ser mortal.

A un paciente con SLE se le puede tratar con una proteína biespecífica que inhibe BAFF y B7RP1 antes de, después de o simultáneamente con el tratamiento usando una terapia existente para SLE. Tales terapias existentes para SLE incluyen corticosteroides tales como prednisona, prednisolona y metilprednisolona, agentes antipalúdicos tales como hidroxiclороquina, quinacrina y cloroquina, ácido retinoico, aspirina y otros fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINE), ciclofosfamida, dehidroepiandrosterona, micofenolato de mofetilo, azatioprina, clorambucilo, metotrexato, tacrolimus, dapsona, talidomida, leflunomida, ciclosporina, belimumab, anticuerpos anti-CD20 tales como rituximab, y proteínas de fusión tales como abatacept.

La actividad de enfermedad de pacientes con SLE puede clasificarse usando un instrumento tal como el índice de actividad de enfermedad de lupus eritematoso sistémico (SLEDAI), que proporciona una puntuación para actividad de enfermedad que tiene en consideración los siguientes síntomas, que se ponderan según su intensidad: convulsiones, psicosis, síndrome orgánico cerebral, alteración visual, trastorno de nervio craneal, cefalea por lupus, vasculitis, artritis, miositis, cilindros urinarios, hematuria, proteinuria, piuria, nuevo exantema, alopecia, úlceras mucosas, pleuritis, pericarditis, complemento bajo, aumento de la unión a ADN, fiebre, trombocitopenia y leucopenia. Bombardier *et al.* (1992), *Arthr. & Rheum.* 35(6): 630-640. Los tratamientos descritos en el presente documento pueden ser útiles en la reducción o eliminación de síntomas de SLE según se miden mediante SLEDAI. Los métodos de tratamiento descritos en el presente documento pueden mejorar la puntuación de SLEDAI de un paciente en comparación con un valor de nivel inicial para el mismo paciente antes del inicio del tratamiento con una proteína biespecífica tal como se describe en el presente documento.

Otro método para evaluar la actividad de enfermedad en SLE es el índice del grupo de evaluación de lupus de las Islas británicas (BILAG), que es un sistema de evaluación de actividad de enfermedad para pacientes con SLE basándose en el principio de la intención de tratar del médico. Stoll *et al.* (1996), *Ann. Rheum. Dis.* 55: 756-760; Hay *et al.* (1993), *Q. J. Med.* 86: 447-458. Se asigna una puntuación de BILAG proporcionando puntuaciones de actividad de enfermedad numéricas o alfabéticas independientes en cada uno de ocho sistemas basados en órganos, general (tal como fiebre y fatiga), mucocutáneo (tal como exantema y alopecia, entre muchos otros síntomas), neurológico (tal como convulsiones, cefaleas de tipo migraña y psicosis, entre muchos otros síntomas), musculoesquelético (tal como artritis), cardiorrespiratorio (tal como insuficiencia cardiaca y reducción de la función pulmonar), vasculitis y trombosis, renal (tal como nefritis), y hematológico. *Id.* Los tratamientos descritos en el presente documento pueden ser útiles en la reducción o eliminación de síntomas de SLE según se mide mediante el índice de BILAG o en la disminución de la puntuación de BILAG de un paciente en comparación con un valor de nivel inicial antes del inicio del tratamiento con una proteína biespecífica tal como se describe en el presente documento.

Una proteína biespecífica tal como se describe en el presente documento, que inhibe la proliferación mediada por BAFF de células B y la proliferación mediada por B7RP1 de células T, también puede usarse para tratar artritis reumatoide (RA). RA es una enfermedad crónica con síntomas sistémicos, así como síntomas relacionados específicamente con las articulaciones. Los síntomas incluyen comúnmente sinovitis, que conduce a articulaciones dolorosas e hinchadas, y diversas anomalías de laboratorio tales como niveles superiores a los normales de factor reumatoide, anticuerpos anti-proteína modificada citrulina (anti-CCP), y proteína C-reactiva (CRP) y una tasa de sedimentación de eritrocitos elevada (ESR). Los síntomas menos comunes incluyen diversos síntomas extra-articulares que afectan, por ejemplo, a los tendones, ligamentos, vasos sanguíneos, el corazón y los pulmones. Con frecuencia puede medirse la actividad de enfermedad usando una variedad de índices. Véase, por ejemplo, Anderson *et al.* (2012), *Arthritis care & Res.* 64 (5): 640- 647. Los elementos incluidos en tales índices de puntuación incluyen el número de articulaciones doloridas, el número de articulaciones hinchadas, evaluaciones funcionales y diversos hallazgos de laboratorio tales como CRP, ESR, etc.

A un paciente que padece RA se le puede tratar con una proteína biespecífica dada a conocer en el presente documento que inhibe la proliferación de células B mediada por BAFF y la proliferación de células T mediada por B7RP1 antes de, después de o simultáneamente con el tratamiento con un fármaco en uso actual para RA. Los agentes terapéuticos actualmente en uso para artritis reumatoide (RA) incluyen fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINE) (tales como aspirina e inhibidores de ciclooxigenasa-2 (COX-2)), fármacos antiinflamatorios modificadores de la enfermedad (FAME, tales como metotrexato, leflunomida y sulfasalazina), agentes antipalúdicos (tal como hidroxiclороquina), ciclofosfamida, D-penicilamina, azatioprina, sales de oro, inhibidores de factor de necrosis tumoral (tales como etanercept, infliximab, adalimumab, golimumab y certolizumab pegol), inhibidores de CD20 tales como rituximab, antagonistas de IL-1 tales como anakinra, inhibidores de IL-6 tales como tocilizumab, inhibidores de cinasas de Janus (JAK, tales como tofacitinib), abatacept, y corticosteroides, entre otros.

También puede usarse una cantidad terapéuticamente eficaz de una proteína biespecífica tal como se describe en el

presente documento, que inhibe la proliferación mediada por BAFF de células B y la proliferación mediada por B7RP1 de células T, para tratar una enfermedad inflamatoria del intestino, tal como enfermedad de Crohn o colitis ulcerosa. La enfermedad de Crohn implica una inflamación anómala de cualquier parte del tubo digestivo desde la boca hasta el ano, aunque en la mayoría de los pacientes la inflamación anómala está confinada a las regiones ileocecal, intestino delgado y colon-anorrectal. Normalmente, la inflamación es discontinua. Los síntomas comunes incluyen dolor abdominal, anorexia, pérdida de peso, fiebre, diarrea, sensación de saciedad y/o dolor a la palpación en el cuadrante inferior derecho del abdomen, estreñimiento, vómitos y molestias perianales y secreción. Otros posibles síntomas incluyen artritis periférica, retardo del crecimiento, episcleritis, estomatitis aftosa, eritema nudoso, piodermia gangrenosa, cálculos renales, alcalinización y dilución urinaria alterada, malabsorción, y cálculos biliares, entre otros. Véase por ejemplo Strober *et al.*, *Medical Immunology*, 10ª edición, sección III, capítulo 35 (2001); Merck Manual of Diagnosis and Therapy, 1ª edición, sección 3, capítulo 31 (1999). Los macrófagos aislados de pacientes con enfermedad de Crohn producen cantidades aumentadas de IL-12, IFN γ , TNF α y otras citocinas inflamatorias.

La colitis ulcerosa, aunque algunas veces es difícil de distinguir de la enfermedad de Crohn, es distinta de la enfermedad de Crohn en varios aspectos. En primer lugar, está generalmente limitada al colon mientras que la enfermedad de Crohn puede producirse a lo largo de todo el tubo digestivo. En segundo lugar, la colitis ulcerosa implica principalmente inflamación sólo de las capas superficiales del intestino, a diferencia de la enfermedad de Crohn en la que la inflamación puede penetrar totalmente a través de la pared del intestino u otra ubicación en el tubo digestivo. Finalmente, la colitis ulcerosa afecta normalmente a una zona continua de inflamación, en vez de los sitios discontinuos de inflamación típicos de la enfermedad de Crohn. A diferencia de la enfermedad de Crohn, la colitis ulcerosa se encuentra principalmente en zonas urbanas. Además, factores genéticos desempeñan probablemente un papel en la colitis ulcerosa dado que hay una agregación familiar de casos. En pacientes con colitis ulcerosa se observan autoanticuerpos con más frecuencia que en pacientes con enfermedad de Crohn. Los autoanticuerpos van dirigidos con frecuencia a componentes de células epiteliales del colon. Entre los más comunes se encuentran anticuerpos citoplasmáticos antineutrófilos con especificidades por catalasa, α -enolasa y lactoferrina. En algunos casos, tales anticuerpos reaccionan de manera cruzada con microorganismos del colon.

En ensayos clínicos, la actividad de enfermedad de Crohn se puntúa con frecuencia usando el índice de actividad de enfermedad de Crohn (CAI). El CAI proporciona una puntuación de actividad de enfermedad basándose en ocho factores incluyendo (1) el número de deposiciones líquidas o blandas al día, (2) una clasificación del paciente de la cantidad de dolor abdominal al día, (3) una clasificación del paciente del bienestar general, (4) una notificación del paciente de otros síntomas incluyendo artritis, iritis, uveítis, eritema nudoso, piodermia gangrenosa, estomatitis aftosa, fisura anal, fístula o absceso, otra fístula, o fiebre, (5) notificación del paciente de tomar Lomotil u otros opiáceos para diarrea, (6) masa abdominal, (7) hematocrito y (8) peso corporal. Véase, por ejemplo, Best *et al* (1976), *Gastroenterol.* 70: 439-444.

Los síntomas de colitis ulcerosa son variables. Pueden incluir diarrea, tenesmo, calambres abdominales, sangre y mucosa en las deposiciones, fiebre y hemorragia rectal. También puede producirse megacolon tóxico, un estado potencialmente mortal en el que el colon se dilata más allá de aproximadamente 6 centímetros y puede perder su tono muscular y/o perforarse. Otros síntomas que pueden acompañar a la colitis ulcerosa incluyen artritis periférica, espondilitis anquilosante, sacroilítis, uveítis anterior, eritema nudoso, piodermia gangrenosa, episcleritis, hepatitis autoinmunitaria, colangitis esclerosante primaria, cirrosis, y crecimiento y desarrollo retardados en niños.

A un paciente que padece una enfermedad inflamatoria del intestino (EII), tal como enfermedad de Crohn o colitis ulcerosa, se le puede tratar con una proteína biespecífica que se une a BAFF y B7RP1 dada a conocer en el presente documento antes de, después de o simultáneamente con el tratamiento con una terapia existente para EII. Los agentes terapéuticos existentes para EII incluyen, por ejemplo, sulfasalazina, ácido 5-aminosalicílico y sus derivados (tales como olsalazina, balsalazida y mesalamina), anticuerpos anti-TNF (incluyendo infliximab, adalimumab, golimumab y certolizumab pegol), corticosteroides para administración oral o parenteral (incluyendo prednisona, metilprednisona, budesonida o hidrocortisona), hormona adrenocorticotrópica, antibióticos (incluyendo metronidazol, ciprofloxacina o rifaximina), azatioprina, 6-mercaptopurina, metotrexato, ciclosporina, tacrolimus y talidomida.

Ácidos nucleicos que codifican proteínas biespecíficas

En el presente documento se proporcionan ácidos nucleicos que codifican una proteína biespecífica que puede inhibir la proliferación de células T mediada por B7RP1 y la proliferación de células B mediada por BAFF. Por ejemplo, SEQ ID NO: 52 codifica la región VL que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 14, y SEQ ID NO: 53 codifica la región VH que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 15. De manera similar, SEQ ID NO: 55 y 56 codifican las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 17 y 18, respectivamente, que son polipéptidos que comprenden la cadena pesada de un anticuerpo anti-B7RP1 fusionada a dos péptidos de unión a BAFF. SEQ ID NO: 57 codifica la cadena ligera de un anticuerpo anti-B7RP1, que puede ser parte de un anticuerpo de IgG biespecífico heterotetramérico o una proteína de fusión biespecífica, tal como se describió anteriormente. Se contempla cualquier secuencia de ácido nucleico que codifica cualquier secuencia de aminoácidos proporcionada en el presente documento. De manera similar, variantes de secuencias de nucleótidos que incluyen mutaciones silenciosas con respecto a secuencias dadas a conocer en el presente documento o que codifican las variantes de secuencias de aminoácidos descritas anteriormente también se incluyen dentro de ámbito de la invención. Más

específicamente, se contemplan secuencias de nucleótidos que codifican secuencias de aminoácidos que varían en no más de 10 inserciones, deleciones o sustituciones de un único aminoácido por cada 100 aminoácidos con respecto a secuencias de aminoácidos dadas a conocer en el presente documento.

5 Un experto en la técnica puede determinar secuencias de ácido nucleico que codifican proteínas biespecíficas descritas en el presente documento basándose en las secuencias de aminoácidos proporcionadas en el presente documento y el conocimiento en la técnica. Además de métodos más tradicionales de producir segmentos de ADN clonados que codifican una secuencia de aminoácidos particular, empresas tales como DNA 2.0 (Menlo Park, CA, EE.UU.) y BlueHeron (Bothell, WA, EE.UU.), entre otras, ahora producen de manera rutinaria ADN de tamaño de genes, químicamente sintetizados, de cualquier secuencia deseada a medida, optimizando por tanto el procedimiento de producción de tales ADN. El uso de codones puede ajustarse para optimizar la expresión en el sistema de elección.

Métodos de producción de proteínas biespecíficas que se unen a BAFF y B7RP1

15 Pueden insertarse ácidos nucleicos que codifican las proteínas biespecíficas descritas en el presente documento en vectores apropiados para la célula huésped en la que se expresará el ácido nucleico. Estos ácidos nucleicos pueden introducirse en las células huésped mediante cualquiera de los métodos bien conocidos en la técnica. Las células huésped que pueden usarse incluyen bacterias, incluyendo *Escherichia coli*, levadura, incluyendo *Saccharomyces cerevisiae* o *Pichia pastoris*, células de insecto incluyendo células de *Spodoptera frugiperda*, células vegetales y células de mamífero, incluyendo células de ovario de hámster chino (CHO), células de riñón de cría de hámster (BHK), células de riñón de mono, células HeLa, células de carcinoma hepatocelular humano y células 293, entre muchas otras. Estas células huésped pueden cultivarse en condiciones tales que los ácidos nucleicos introducidos se expresarán, y la proteína biespecífica puede recuperarse a partir del sobrenadante de cultivo o la masa celular.

20 Generalmente, el procedimiento usado para introducir los ácidos nucleicos en las células huésped puede depender de la célula huésped en la que van a introducirse los ácidos nucleicos. En la técnica se conocen bien métodos de introducción de ácidos nucleicos en bacterias. Por ejemplo, habitualmente se usan electroporación o transformación con cloruro de calcio. En la técnica también se conocen bien métodos para la introducción de ácidos nucleicos en levadura e incluyen, por ejemplo, métodos de transformación usando acetato de litio y polietilenglicol. En la técnica se conocen bien métodos para introducir polinucleótidos heterólogos en células de mamífero e incluyen, pero no se limitan a, transfección mediada por dextrano, precipitación con fosfato de calcio, transfección mediada por Polybrene, fusión de protoplasto, electroporación, encapsulación del/de los polinucleótido(s) en liposomas y microinyección directa del ADN en núcleos.

25 Los vectores de expresión usados en cualquiera de las células huésped pueden contener secuencias necesarias para la replicación de ADN, selección de células huésped que contienen el vector, y expresión de las secuencias de nucleótidos exógenas. Tales secuencias pueden incluir normalmente una o más de las siguientes secuencias de nucleótidos: un promotor, una o más secuencias de potenciador, un origen de replicación, una secuencia de terminación de la transcripción, una secuencia de intrones completa que contiene un sitio de corte y empalme donador y uno aceptor, una secuencia que codifica una secuencia líder para la secreción de polipéptido, un sitio de unión al ribosoma, una secuencia de poliadenilación, una región de poliligador para insertar el ácido nucleico que codifica el polipéptido que va a expresarse, y un elemento marcador seleccionable. En la técnica se conocen numerosos vectores de expresión apropiados para la expresión en diversas células huésped y están comercialmente disponibles.

Composiciones farmacéuticas, dosificación y métodos de administración

35 Se proporcionan composiciones farmacéuticas que comprenden las proteínas biespecíficas descritas en el presente documento. Tales composiciones pueden comprender una cantidad terapéuticamente eficaz de una proteína biespecífica con uno o más componentes adicionales tales como un portador, excipiente o diluyente fisiológicamente aceptable. Tales componentes adicionales pueden incluir tampones, hidratos de carbono, polioles, aminoácidos, agentes quelantes, estabilizantes y/o conservantes, entre muchas posibilidades. Muchos componentes adicionales de este tipo se describen, por ejemplo, en REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES, 18ª edición, (A.R. Gennaro, ed.), 1990, Mack Publishing Company.

40 La dosificación de las proteínas biespecíficas descritas en el presente documento puede ajustarse para lograr los efectos deseados. En muchos casos, se requerirá una dosificación repetida debido a la naturaleza crónica de la enfermedad que está tratándose. Por ejemplo, una proteína biespecífica tal como se describe en el presente documento puede dosificarse dos veces por semana, una vez por semana, una vez cada dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve o diez semanas, o una vez cada dos, tres, cuatro, cinco o seis meses. La cantidad de la proteína biespecífica administrada cada día que se administra puede ser de desde aproximadamente 0,0036 mg hasta aproximadamente 700 mg. Alternativamente, la dosis puede calibrarse según la superficie de piel estimada de un paciente, y cada dosis puede ser de desde aproximadamente 0,002 $\mu\text{g}/\text{m}^2$ hasta aproximadamente 350 mg/m^2 . En otra alternativa, la dosis puede calibrarse según el peso del paciente, y cada dosis puede ser de desde aproximadamente 0,000051 mg/kg hasta aproximadamente 10,0 mg/kg .

Las proteínas biespecíficas, o composiciones farmacéuticas que contienen estas moléculas, pueden administrarse mediante cualquier método viable. Los agentes terapéuticos que comprenden una proteína se administrarán habitualmente por una vía parenteral, por ejemplo mediante inyección, dado que la administración oral, en ausencia de alguna formulación o circunstancia especial, conducirá a la hidrólisis de la proteína en el entorno ácido del estómago. Las inyecciones en bolo subcutánea, intramuscular, intravenosa, intraarterial, intralesional y peritoneal son posibles vías de administración. Las proteínas biespecíficas también pueden administrarse mediante infusión, por ejemplo infusión intravenosa o subcutánea. La administración tópica también es posible, especialmente para enfermedades que afectan a la piel. Alternativamente, las proteínas biespecíficas pueden administrarse mediante contacto con una membrana mucosa, por ejemplo mediante administración intranasal, sublingual, vaginal o rectal o administración como inhalante. Alternativamente, determinadas composiciones farmacéuticas apropiadas que comprenden una proteína biespecífica pueden administrarse por vía oral.

Habiendo descrito la invención anteriormente en términos generales, se ofrecen los siguientes ejemplos a modo de ilustración y no de limitación.

Ejemplos

15 *Ejemplo 1: Diseño y pruebas de una molécula biespecífica para BAFF/B7RP1 para su uso terapéutico en seres humanos*

El objetivo de esta serie de experimentos era encontrar una molécula biespecífica que (1) inhiba la proliferación de células B mediada por BAFF y la proliferación de células T mediada por B7RP1, (2) sea altamente activa en ensayos biológicos, y (3) tenga propiedades biofísicas favorables. En la figura 1 se ilustran varios diseños esquemáticos para la fusión de un péptido que se une a BAFF humano con un anticuerpo de IgG anti-B7RP1 humana (anti-huB7RP1). La secuencia del péptido de unión a BAFF se proporciona en SEQ ID NO: 1, y las secuencias de las cadenas pesada y ligera de inmunoglobulina del anticuerpo anti-huB7RP1 se proporcionan en SEQ ID NO: 25 y SEQ ID NO: 19, respectivamente.

Para determinar qué diseño tenía las mejores propiedades biofísicas, mientras se conservaba la actividad biológica, se realizaron y se sometieron a prueba las moléculas biespecíficas presentadas en diagramas en la figura 1. En un constructo, se fusionaron dos copias en tándem del péptido de unión a BAFF con un ligador intermedio (el "ligador 1K", que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 24) al extremo N-terminal o bien de la cadena pesada de inmunoglobulina (P71617) o bien de la cadena ligera de inmunoglobulina (P71618) del anticuerpo anti-huB7RP1. Véase la figura 1. La secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de P71617 se proporciona en SEQ ID NO: 26, y la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de P71617 es la misma que la de la cadena ligera de inmunoglobulina del anticuerpo anti-huB7RP1 (SEQ ID NO: 19). La secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de P71618 se proporciona en SEQ ID NO: 27, y la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de P71618 es la misma que la cadena pesada de inmunoglobulina del anticuerpo anti-huB7RP1 (SEQ ID NO: 25). También se fusionaron dos copias en tándem del péptido de unión a BAFF al extremo C-terminal de la cadena pesada de inmunoglobulina del anticuerpo anti-huB7RP1 (que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 25) usando o bien el ligador 1K mencionado anteriormente (que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 24; P71619) o bien un ligador 5X(G4S) (SEQ ID NO: 71) entre los dos péptidos de unión a BAFF (P71620). Las secuencias de aminoácidos de las cadenas pesadas de estos dos constructos de fusión se proporcionan en SEQ ID NO: 16 (P71619) y SEQ ID NO: 28 (P71620). En el constructo P71621, se insertaron dos copias en tándem del péptido de unión a BAFF con un ligador 1K intermedio en el dominio CH3 del anticuerpo entre los residuos 358 y 359 de la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 25 (la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de inmunoglobulina del anticuerpo anti-huB7RP1). La secuencia de la cadena pesada del constructo P71621 se proporciona en SEQ ID NO: 29. En el constructo P71622, el péptido de unión a BAFF se insertó en el dominio CH3 de la cadena pesada de inmunoglobulina del anticuerpo anti-huB7RP1 (entre los residuos 358 y 359 de SEQ ID NO: 25) y se fusionó una segunda copia del péptido de unión a BAFF al extremo C-terminal de la cadena pesada. La secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de P71622 se proporciona en SEQ ID NO: 30. En el constructo P71623, se insertó un péptido de unión a BAFF en la región CH2 (entre los residuos 268 y 269 de SEQ ID NO: 25), y se insertó un segundo péptido de unión a BAFF en la región CH3 (entre los residuos 358 y 359 de SEQ ID NO: 25). SEQ ID NO: 31 es la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de P71623. Todos los constructos P71619-P71623 tienen la cadena ligera de inmunoglobulina del anticuerpo anti-huB7RP1 (SEQ ID NO: 19).

En los constructos P74293 y P74294, se modificó el ligador entre las dos copias en tándem de los péptidos de unión a BAFF en el constructo P71619. Las secuencias de aminoácidos de las cadenas pesadas de P74293 y P74294 se proporcionan en SEQ ID NO: 17 y SEQ ID NO: 18, respectivamente. Las cadenas ligeras de inmunoglobulina de estos constructos también tienen la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 19.

Se prepararon ácidos nucleicos que codificaban para los constructos descritos anteriormente de la siguiente manera. Se generaron sintéticamente ácidos nucleicos que codificaban para la parte N-terminal de las fusiones peptídicas de BAFF N-terminales (P71617 y P71618), incluyendo dos copias del péptido de unión a BAFF más una región variable de cadena pesada o ligera de inmunoglobulina. Se ligaron, mediante sitios de endonucleasa de restricción convenientes, a ácidos nucleicos que codificaban para la región constante de cadena pesada o ligera de inmunoglobulina en vectores apropiados. Se generaron sintéticamente todos los ácidos nucleicos que codificaban

para fusiones C-terminales de región constante de cadena pesada (P71619 y P71620), inserciones de bucle de Fc (P71621 y P71623) y la inserción de bucle Fc/fusión C-terminal (P71622) y se ligaron en un vector que contenía la región variable de cadena pesada a través de sitios de endonucleasas de restricción convenientes.

5 Se expresaron los diversos constructos biespecíficos descritos anteriormente tanto en células 293 transfectadas de manera transitoria como en células CHO transfectadas de manera estable. Se purificaron las proteínas de fusión y se sometieron a prueba para determinar la actividad biológica. No se observaron diferencias en proteínas producidas en estas dos clases diferentes de células huésped.

10 Se sometieron a prueba las actividades inhibitoras de BAFF de las moléculas biespecíficas en un ensayo de proliferación de células B primarias humanas mediada por BAFF. En resumen, se purificaron células B humanas a partir de células mononucleares de sangre periférica (CMSP) usando selección negativa usando un kit II de células B humanas de Miltenyi Biotec (Auburn, CA). Se cultivaron aproximadamente 10^5 células B purificadas en placas de microtitulación de 96 pocillos en medios esenciales mínimos (MEM) más suero bovino fetal (FBS) inactivado por calor al 10% en presencia de proteína humana BAFF 50 ng/ml, F(ab')₂ de cabra anti-IgM humana 2 µg/ml (Jackson ImmunoResearch) y diversas concentraciones de una de las proteínas biespecíficas descritas anteriormente a 37°C
15 en CO₂ al 5% durante 48 horas. Se usó un peptidocuerpo anti-BAFF como control positivo ("αBAFF", que es un homodímero que contiene dos cadenas de polipéptido, comprendiendo cada una dos péptidos de unión a BAFF fusionados a un polipéptido de Fc). La molécula αBAFF se describe en detalle en la patente estadounidense 7.259.137, y la secuencia de aminoácidos de una cadena de polipéptido de este homodímero se proporciona en SEQ ID NO: 32. Se midió la proliferación mediante la captación de ³H-timidina radiactiva durante las últimas
20 18 horas de incubación. Los resultados se muestran en las figuras 2A y 2B.

Los datos en la figura 2A indican que los dos constructos de fusión C-terminal (P71619 y P71620) eran comparables entre sí en cuanto a la inhibición de la proliferación de células B mediada por BAFF y más potentes que todos los demás constructos de fusión sometidos a prueba en este experimento. No se continuó adicionalmente con P71620 porque tendía a agregarse, una propiedad que es altamente indeseable en una proteína terapéutica. Los datos en la
25 figura 2B indican que P71619 es comparable a las dos versiones ligeramente modificadas de este constructo descritas anteriormente (P74293 y P74294) y a un control positivo (αBAFF) en cuanto a la inhibición de la proliferación de células B mediada por BAFF. Por tanto, entre los constructos biespecíficos sometidos a prueba, P71619, P71620, P74293 y P74294 tenían actividad comparable en este ensayo de proliferación de células B mediada por BAFF y mejor actividad que todos los demás constructos sometidos a prueba.

30 Se sometió a ensayo la actividad inhibitora de B7RP1 de P71619, P74293 y P74294 usando un ensayo de proliferación de células T mediada por Fc-B7RP1 humana. Células T humanas primarias purificadas a partir de CMSP de donantes humanos sanos usando el kit de aislamiento de células T Pan de Miltenyi Biotec (Auburn, CA) y estimuladas con anticuerpo anti-CD3 unido a placa (1 µg/ml) y una proteína de fusión B7RP1-Fc (3 µg/ml) en presencia de diversas concentraciones de las proteínas biespecíficas descritas anteriormente o un anticuerpo de
35 IgG2 anti-B7RP1 humana (denominado en el presente documento "αB7RP1"). Se añadió ³H-timidina a las células tras 48 horas y se midió la incorporación de ³H-timidina 24 horas después. Todos los anticuerpos biespecíficos que se sometieron a prueba tenían CI₅₀ similares, que fueron similares a la de αB7RP1 (figura 3). Por tanto, estos datos sugieren que la conjugación de los péptidos de unión a BAFF con el anticuerpo anti-huB7RP1 tuvo poco o ningún efecto sobre la capacidad del anticuerpo para inhibir la actividad de B7RP1.

40 Se midieron las afinidades de unión de los anticuerpos biespecíficos heterodiméricos P74293 y P74294 a BAFF y B7RP1 mediante ensayo de exclusión cinética (KinExA[®]; Sapidyne Instruments, Boise, Idaho). Ambos anticuerpos tienen altas afinidades de unión a BAFF humano (teniendo K_d de aproximadamente 30 pM) y a B7RP1 humana (teniendo K_d de aproximadamente 40 pM). Véase la tabla 2 a continuación. Además, ambos de estos anticuerpos biespecíficos tienen afinidades de unión similares a BAFF de macaco cangrejero en comparación con BAFF humano
45 y a B7RP1 de macaco cangrejero en comparación con B7RP1 humana. Tabla 2.

Tabla 2: afinidad de unión y potencia celular de P74293 y P74294.

	P74293	P74294
K _d (pM) para la unión a BAFF humano	29	37
K _d (pM) para la unión a BAFF de macaco cangrejero	22,3	17,4
CI ₅₀ (nM) para la inhibición de la proliferación de células B humanas mediada por BAFF	0,86	0,96
CI ₅₀ (nM) para la inhibición de la proliferación de células B de macaco cangrejero mediada por BAFF	1,6	1,8
K _d (pM) para la unión a B7RP1 humana	38	41
K _d (pM) para la unión a B7RP1 de macaco cangrejero	49,4	45,2
CI ₅₀ (nM) para la inhibición de la proliferación de células T humanas mediada por B7RP1	1,36	0,98
CI ₅₀ (nM) para la inhibición de la proliferación de células T de macaco cangrejero mediada por B7RP1	0,29	ND*

*ND significa no determinado.

Para evaluar adicionalmente la actividad de P74293 en un sistema *in vitro* usando células humanas, se evaluó la producción de citocinas mediante células de amígdalas humanas activadas por enterotoxina B de *Staphylococcus* (SEB) en presencia de diversas moléculas de prueba. En resumen, se aislaron células de amígdalas humanas a partir de tejido y se estimularon con SEB (1 µg/ml) en presencia de una de las siguientes moléculas: (1) αB7RP1, (2) P74293, (3) CTLA4-Ig (un control positivo) o (4) humana IgG (un control negativo). Tras 72 horas de cultivo, se recogió el sobrenadante celular y se sometieron a ensayo los niveles de citocinas usando kits de Meso Scale Discovery según las instrucciones del fabricante. Los resultados se muestran en la figura 4.

Los tres de αB7RP1, P74293 y CTLA4-Ig, barras 1, 2 y 3, respectivamente, en todos los paneles de la figura 4, inhibieron la liberación de IL-17, IL-10, IL-4 e IFNγ. La liberación de IL-2 sólo se inhibió por CTLA4-Ig. Por tanto, αB7RP1 y el anticuerpo biespecífico anti-BAFF/B7RP1, P74293, tenían efectos comparables y específicos sobre la secreción de citocinas mediante células de amígdalas humanas activadas por SEB.

Se examinaron tres proteínas biespecíficas heterodiméricas, es decir, P71619, P74293 y P74294, para determinar propiedades adicionales. Los títulos de proteínas a partir de cultivos de células huésped que producían estas proteínas indicaron que P74293 y P74294 se producían aproximadamente al doble de los niveles a los que se producía P71619. P74293 y P74294 también eran más estables que P71619 tras el almacenamiento durante dos semanas a 40°C según se evalúa mediante cromatografía de exclusión molecular (SEC). P74293 formó una disolución transparente al comienzo del almacenamiento y tras 4 semanas de almacenamiento, mientras que disoluciones que contenían P74394 eran turbias en todos los puntos de tiempo. Las disoluciones de P74293 y P74294 eran menos viscosas que las disoluciones de P71619. Por tanto, P74293 y P74294 se expresaron a niveles superiores a P71619 y también eran más estables y menos viscosos en el intervalo de concentración sometido a prueba que P71619. La diferencia más evidente entre estas moléculas se encuentra en el ligador entre los dos péptidos de unión a BAFF. Estos datos sugieren que los ligadores en P74293 y P74294 (SEQ ID NO: 6 y 7) pueden conferir propiedades mejoradas a estas moléculas.

Se evaluaron las propiedades farmacocinéticas de las moléculas biespecíficas descritas en ratones. A ratones CD-1 macho se les administró una única dosis intravenosa (i.v.) (5 mg/kg) de las proteínas de fusión biespecíficas P71617, P71619, P71621, P71622, P74293 o P74294. Se recogieron muestras de suero antes de la dosificación y a las 0,5, 2, 8, 24, 48, 72, 96, 168, 240, 336, 408, 504 horas tras la dosificación. Se determinó la concentración de la molécula biespecífica en el suero mediante dos métodos de ELISA, uno que registra la presencia de la parte Fc y uno que registra la presencia tanto de la parte Fc como de la parte de péptido de unión a BAFF. Para la medición de la parte Fc, se usó un anticuerpo anti-Fc biotinilado como reactivo de captura, y se usó anticuerpo anti-Fc marcado con ALEXA FLUOR® 647 como reactivo de detección. Para detectar la parte de unión a BAFF y la parte Fc del anticuerpo biespecífico, se usó una proteína BAFF biotinilada como reactivo de captura, y se usó anticuerpo anti-Fc marcado con ALEXA FLUOR® 647 como reactivo de detección. Las proteínas biespecíficas con dos copias en tándem de péptidos de unión a BAFF fusionados al extremo N-terminal (P71617), extremo C-terminal (P71619, P74293 y P74294) o dominio CH3 (P71621) de la cadena pesada tienen perfiles PK muy similares en ratones. Figura 5. La proteína biespecífica con una copia de péptido de unión a BAFF insertada en el dominio CH3 y otra copia fusionada al extremo C-terminal de la cadena pesada (P71622) tuvo una exposición inferior en comparación con las otras proteínas biespecíficas. Figura 5. Además, los dos ensayos ELISA diferentes dieron como resultado concentraciones en suero similares de las proteínas biespecíficas, lo que sugiere que no se produjo *in vivo* ninguna escisión significativa de las proteínas biespecíficas.

También se evaluaron parámetros farmacocinéticos y farmacodinámicos de los anticuerpos biespecíficos heterodiméricos P74293 y P74294 mediante un estudio de una sola dosis en macacos cangrejeros. A macacos cangrejeros macho que no recibieron tratamiento previo (n=4) se les administró una única dosis subcutánea o intravenosa en bolo de P74293 (10 mg/kg) o una única dosis subcutánea de P74294 (10 mg/kg). Ambas moléculas biespecíficas tienen perfiles PK similares a los de un anticuerpo de IgG. Los parámetros farmacocinéticos observados para P74293 y P74294, así como para anticuerpo anti-huB7RP1, se notifican en la tabla 3 a continuación.

Tabla 3: parámetros farmacocinéticos en macaco cangrejero

	P74293		P74294	Anticuerpo anti-huB7RP1	
	10 mg/kg i.v.	10 mg/kg s.c.	10 mg/kg s.c.	10 mg/kg i.v.	10 mg/kg s.c.
Concentración de fármaco máxima (C _{máx.} : µg/ml)	323	90	74	264	112
Tiempo en el que se observó C _{máx.} (T _{máx.} ; h)		45	51		72
Área bajo la curva (AUC _{0-inf.} ; µg*h/ml)	33800	20300	22000	26100	23800
Tiempo de residencia medio (MRT _{0-inf.} ; h)	136	132	148	138	144
Aclaramiento total (CL; ml/h/kg)	0,303	0,491	0,484	0,388	0,427
Volumen de distribución en el estado	42,5			52,1	

estacionario (Vss; ml/kg)					
---------------------------	--	--	--	--	--

Los datos en la tabla 3 indican que los parámetros farmacocinéticos de P74293 y P75294 son comparables entre sí y con los del anticuerpo anti-huB7RP1.

Ejemplo 2: Diseño y pruebas de molécula sustituta biespecífica murina

5 Para llevar a cabo estudios preclínicos en ratones, se construyó una molécula biespecífica sustituta murina que podía unirse a B7RP1 murina y BAFF murino (a continuación en el presente documento, el “sustituto murino”). El anticuerpo anti-huB7RP1 usado para construir los constructos biespecíficos descritos en el ejemplo 1 no se une a B7RP1 murina, mientras que el péptido de unión a BAFF usado en esos constructos se une a BAFF tanto humano como murino. Datos no mostrados. El sustituto murino comprende un anticuerpo de IgG anti-B7RP1 murina antagonista (denominado “anticuerpo anti-mB7RP1” en el presente documento), que era una quimera de regiones constantes de inmunoglobulina de ratón y regiones variables de inmunoglobulina anti-B7RP1 murina de rata. El uso de anticuerpo anti-mB7RP1 se describe en Hu *et al* (2009), J. Immunol. 182: 1421, donde se denomina 1B7-V2. El sustituto murino tiene dos copias de un péptido de unión a BAFF (SEQ ID NO: 1) fusionadas a través de un ligador corto (cinco aminoácidos de longitud) al extremo C-terminal de la cadena pesada de inmunoglobulina de anticuerpo anti-mB7RP1. Las dos copias del péptido de unión a BAFF están separadas por otro ligador que tiene 23 aminoácidos de longitud. Se prepararon ácidos nucleicos que codificaban para la cadena pesada del sustituto murino usando PCR de solapamiento para unir ácidos nucleicos que codificaban para la parte de unión a BAFF de α BAFF al extremo en el sentido de 3' de ácidos nucleicos que codificaban para la cadena pesada de 1B7-V2, es decir, anticuerpo anti-mB7RP1.

20 Se evaluó la inhibición de BAFF mediante el sustituto murino en un ensayo de proliferación de células B mediada por BAFF. Se aislaron linfocitos B de ratón a partir de bazo C57BL/6 mediante selección negativa con microperlas CD43 de MACS (Iy-48) según las instrucciones del fabricante (Miltenyi Biotec, Auburn, CA) o a partir de CMSP usando un kit de aislamiento de células B (Miltenyi Biotec, Auburn, CA). Se estimularon células B purificadas con anticuerpo anti-IgM 0,1 μ g/ml y BAFF 200 ng/ml en presencia de diversas concentraciones del sustituto murino o α BAFF. Se midió la proliferación de células B mediante incorporación de 3 H-timidina en el día 4. Las CI_{50} del sustituto murino y de α BAFF fueron de 0,59 nM y 0,73 nM, respectivamente. Véase la figura 6A. Por tanto, el sustituto murino inhibió eficazmente BAFF con una potencia comparable a la de α BAFF.

30 Para medir la inhibición de la unión de B7RP1 a su receptor mediante el sustituto murino, en primer lugar se activaron células de bazo de ratón para potenciar su expresión del receptor de B7RP1 incubándolas en pocillos de microtitulación recubiertos con un anticuerpo anti-CD3 (5 μ g/ml) durante 24 horas. Se lavaron las células de bazo activadas con solución salina tamponada con fosfato (PBS) y después se incubaron con muB7RP1:Fc biotinilado 5 μ g/ml en presencia de diversas concentraciones del sustituto murino a 4°C durante 30 minutos. Se lavaron las células y después se tiñeron con anticuerpo anti-CD3 de ratón conjugado con alofococianina (APC) y estreptavidina-ficoeritrina (estreptavidina-PE) durante 20 minutos adicionales. Se analizó la unión de B7RP1-Fc a células T mediante citometría de flujo. Las CI_{50} del sustituto murino y de anticuerpo anti-mB7RP1 fueron de 4,01 pM y 2,8 pM, respectivamente. Véase la figura 6B. Por tanto, la actividad del sustituto murino fue similar a la de anticuerpo anti-mB7RP1 en este ensayo. Por tanto, el sustituto murino inhibe tanto BAFF como B7RP1.

40 Se evaluaron los efectos farmacodinámicos *in vivo* del sustituto murino en ratones inmunizados con los glóbulos rojos de oveja (SRBC). En resumen, ratones BALB/c (8 semanas de edad) recibieron una inmunización primaria en el día 0 y una inmunización de recuerdo en el día 28 con 2 X 10⁸ SRBC en 0,2 ml de PBS mediante inyección intraperitoneal. Se trataron los ratones (n=5 para cada molécula) dos veces por semana desde el día 0 hasta el día 33 con una de las siguientes moléculas a 5 mg/kg: el sustituto murino; α BAFF; anticuerpo anti-mB7RP1; o IgG1 murina. Ratones tratados con SBRC, pero que no recibieron otro tratamiento, sirvieron como controles positivos. Se sacrificaron los ratones en el día 34, y se recogieron suero y bazo.

45 Para medir la proporción de células B y células T de memoria en el bazo, se recogieron células de bazo mediante filtrado del tejido de bazo mediante un filtro de células. Se incubaron previamente las células de bazo con anticuerpo anti-CD16/32 sin marcar para bloquear la unión no específica de anticuerpos a receptores de Fc gamma (Fc γ R). Se determinó la proporción de células B mediante tinción con anticuerpo anti-B220 marcado con PE (que se expresa en células B). Se determinó la proporción de células T de memoria (células T CD44^{hi}D62L^{lo}CD4) mediante tinción con anticuerpo anti-CD44 conjugado con FITC, anticuerpo anti-CD62L conjugado con PE, anticuerpo anti-CD4 conjugado con APC y anticuerpo anti-CD3 conjugado con PerCP. Todos los anticuerpos de tinción se adquirieron de BD Bioscience (San Diego, CA). Para determinaciones de células tanto B como T, se realizó citometría de flujo con un citómetro de flujo FACSCALIBUR™ (BD Bioscience, San José, CA), y se analizaron los datos usando software FLOWJO® (TreeStar Inc., Ashland, OR) para el análisis de datos de citometría de flujo. Los resultados se muestran en la figura 7.

55 Para medir los niveles de anticuerpos anti-SBRC en suero, se incubaron placas de microtitulación recubiertas con antígeno SRBC soluble 10 μ g/ml durante dos horas a temperatura ambiente con suero diluido de ratones tratados. Se detectó IgG específica de SRBC unida a partir del suero con anticuerpos policlonales de cabra anti-IgG e IgM de ratón conjugados con HRP (Southern Biotech, Birmingham, AL). Se realizó la reacción de sustrato usando sustrato

de peroxidasa para micropocillos SUREBLUE™ TMB (KPL, Gaithersburg, MD) según las instrucciones del fabricante, y se leyó la densidad óptica usando un lector de microplacas Spectrum Max (Molecular Devices). Como control positivo, se añadieron diluciones en serie de una mezcla de sueros de ratones inmunizados con SRBC sin ningún tratamiento a cada placa, y se construyó una curva patrón a partir de las lecturas de esos pocillos. En la

5

El porcentaje de células de bazo que son células B se redujo en ratones tratados con el sustituto murino en comparación con el porcentaje observado en ratones tratados con IgG1 murina. Figura 7 (panel superior). Se observó una reducción similar en ratones tratados con α BAFF o α BAFF más anticuerpo anti-mB7RP1, pero no en ratones tratados con anticuerpo anti-mB7RP1 solo. Figura 7 (panel superior). Con respecto a las células T de memoria, los ratones tratados con el sustituto murino, anticuerpo anti-mB7RP1 o anticuerpo anti-mB7RP1 más α BAFF tenían proporciones reducidas de células T de memoria en comparación con lo observado en ratones tratados con mulgG1. Figura 7 (panel central). En cambio, el tratamiento con α BAFF no alteró la población de células T de memoria en el bazo en comparación con la observada con tratamiento con mulgG. Figura 7 (panel central). El sustituto murino también mostró una potente reducción del nivel de anticuerpos anti-SRBC en suero, similar a la observada tras el tratamiento con anticuerpo anti-mB7RP1 o anticuerpo anti-mB7RP1 más α BAFF o en ratones a los que no se les había inyectado SRBC. Figura 7 (panel inferior). Se observó una inhibición moderada del nivel de anticuerpos anti-SRBC, en comparación con el nivel observado con tratamiento con mlgG1, en ratones tratados con α BAFF solo. Figura 7 (panel inferior). Estos datos indican que el sustituto murino tenía efectos inhibitorios dobles en compartimentos de células B y células T en ratones *in vivo*.

10

15

20

25

30

35

Se evaluó el impacto del sustituto murino sobre la enfermedad en el modelo de lupus de NZB/W F₁ usando dos cantidades de dosis diferentes para cada una de las moléculas sometidas a prueba. Se trataron ratones NZB/W F₁ hembra (4,5 meses de edad, n=20) dos veces por semana mediante inyección intraperitoneal durante 18 semanas usando cada una de las siguientes pautas posológicas: sustituto murino 5 ó 15 mg/kg (PM \cong 160 KDa); anticuerpo anti-mB7RP1 4,68 ó 14 mg/kg (PM \cong 150 KDa); α BAFF 1,88 ó 5,6 mg/kg (PM \cong 64 KDa); una combinación de α BAFF (1,88 ó 5,6 mg/kg) y anticuerpo anti-mB7RP1 (4,68 ó 14 mg/kg); IgG1 murina (15 mg/kg; un control de isotipo); o solución salina tamponada con fosfato (PBS) (un control negativo). Se midió la proteinuria en orina usando ALBUSTIX® (Bayer, Elkhart, IN) cada dos semanas comenzando a los 5 meses de edad. Se expresó la incidencia de proteinuria como porcentaje de ratones con proteína en orina a una concentración de al menos 300 mg/dl en dos mediciones consecutivas. Se midió el nivel de IgG anti-ADNbc en suero mediante ELISA. Se realizó la puntuación para nefropatía de todos los ratones mediante examen de muestras de tejido renal para ocho clases diferentes de lesiones, es decir, proliferación capilar glomerular, hiperplasia de células mesangiales, matriz mesangial aumentada, adhesión a ovillo glomerular, hiperplasia epitelial parietal, nefritis intersticial, dilatación tubular/cilindros proteicos, y atrofia tubular/fibrosis intersticial. A cada tipo de lesión se le asignó una puntuación de gravedad de desde 0 hasta 5, para una puntuación máxima posible de 32. Se calculó el promedio de las puntuaciones de cada grupo de ratones. Se monitorizó la supervivencia.

40

45

A los 12 meses de edad, ninguno de los ratones tratados con el sustituto murino a ningún nivel de dosis desarrolló proteinuria. En cambio, el 100% de los ratones tratados con IgG1 murina o PBS a ambos niveles de dosis sometidos a prueba mostraron proteinuria. Figuras 8A y 9B. Aproximadamente el 60% y el 35% de los ratones tratados con los niveles de dosis inferiores de anticuerpo anti-mB7RP1 y α BAFF, respectivamente, y aproximadamente el 50% y el 25% de los ratones tratados con los niveles de dosis superiores de anticuerpo anti-mB7RP1 y α BAFF, respectivamente, desarrollaron proteinuria. Figuras 8A y 9B. Además, el tratamiento con sustituto murino a ambos niveles de dosis dio como resultado una reducción significativa de los niveles en suero de IgG anti-ADNbc en comparación con el control negativo tratado con mulgG1. Figura 8B y 9A. El tratamiento biespecífico también mejoró significativamente la supervivencia en comparación con los grupos de control de mlgG y PBS. Datos no mostrados. Sin embargo, no se observó ninguna diferencia clara en la supervivencia entre los tratamientos con agente biespecífico frente a individual en el momento de la terminación del experimento.

50

55

Se extirparon riñones de todos los ratones tratados, incluyendo ratones fallecidos antes del final del estudio, para determinar la puntuación de histología para la gravedad de nefropatía. Los grupos de ratones tratados con α BAFF, la combinación de α BAFF más anticuerpo anti-mB7RP1, o el sustituto murino tuvieron puntuaciones significativamente inferiores para nefropatía en comparación con el grupo de control tratado con mlgG1. Figura 10. Los grupos tratados con el anticuerpo biespecífico sustituto o la combinación también mostraron una tendencia hacia patología renal reducida en comparación con los grupos de tratamiento con agente individual, un resultado que se correlaciona bien con los resultados de proteinuria descritos anteriormente. Compárese la figura 10 con las figuras 8A y 9B. En resumen, la inhibición doble de BAFF y B7RP1 mediante el sustituto murino o mediante un tratamiento de combinación con α BAFF más anticuerpo anti-mB7RP1 fue más eficaz que la inhibición sólo de BAFF (α BAFF) o sólo de B7RP1 (anticuerpo anti-mB7RP1) en la prevención de la aparición y progresión de la enfermedad en el modelo de lupus de NZB/W F₁.

60

Para determinar si la inhibición tanto de BAFF como de B7RP1 podía inhibir eficazmente los síntomas de artritis inducida por colágeno murino, se realizó el siguiente experimento. Se inmunizaron ratones DBA macho con 100 μ g de colágeno bovino de tipo II emulsionado en 2 x adyuvante completo de Freund (CFA) en el día 0 y recibieron administración de recuerdo con colágeno bovino de tipo II en adyuvante incompleto de Freund (IFA) en el día 21. Se

5 trataron los ratones con una de las sustancias de prueba dos veces por semana durante el transcurso de 41 semanas del estudio comenzando en el día 0. Se evaluaron el porcentaje de ratones en cada grupo que muestran síntomas de artritis y una puntuación de artritis promedio para cada grupo en cada punto de tiempo. Las puntuaciones de artritis se determinaron examinando cada extremidad y asignando una puntuación de desde 0-3 para cada extremidad, con puntuaciones superiores para extremidades más hinchada s y/o inflamadas. Por tanto, la puntuación de artritis total máxima es de 12. Se contó que un ratón tenía artritis si tenía una puntuación de artritis de al menos 1 en cualquier extremidad.

10 Los resultados se muestran en la figura 11. Estos datos indican que la combinación de α BAFF y anticuerpo anti-mB7RP1 (círculos negros conectados por líneas continuas) era mucho más eficaz en la supresión de síntomas de artritis que cualquiera de α BAFF (círculos blancos conectados por líneas continuas) o anticuerpo anti-mB7RP1 (círculos negros conectados por líneas discontinuas) solos. Los grupos de control negativo tratados con mIgG (cuadrados negros conectados por líneas continuas) o PBS (cuadrados negros conectados por líneas discontinuas) tuvieron el mayor porcentaje de incidencia de artritis y las mayores puntuaciones de artritis. Estos resultados sugieren que inhibir tanto BAFF como B7RP1, en contraposición a inhibir sólo una de estas rutas, puede ser un tratamiento eficaz de un estado artrítico autoinmunitario y/o inflamatorio tal como artritis reumatoide.

Lista de secuencias

- <110> HSU, HAILING
- ZHANG, MING
- KANNAN, GUNASEKARAN
- 20 JACOBSEN, FREDERICK W.
- TSUJI, WAYNE
- <120> PROTEÍNAS ESPECÍFICAS PARA BAFF Y B7RP1 Y USOS DE LA MISMAS
- <130> A-1887-WO-PCT
- <140> --por asignar--
- 25 <141> 12-03-2014
- <150> Documento 61/942.776
- <151> 21-02-2014
- <150> Documento 61/780.260
- <151> 13-03-2013
- 30 <160> 72
- <170> PatentIn versión 3.5
- <210> 1
- <211> 18
- <212> PRT
- 35 <213> Secuencia artificial
- <220>
- <221> fuente
- <223> /nota="Descripción de la secuencia artificial: péptido sintético"
- <400> 1

Leu Pro Gly Cys Lys Trp Asp Leu Leu Ile Lys Gln Trp Val Cys Asp
1 5 10 15

Pro Leu

<210> 2

<211> 18

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial: péptido sintético"

<400> 2

Phe His Asp Cys Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Val Cys His
1 5 10 15

Gly Leu

10

<210> 3

<211> 12

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15

<220>

<221> fuente

<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial: péptido sintético"

<220>

<221> VARIANTE

20

<222> (3).. (3)

<223> /sustituir="Tyr" o "Phe"

<220>

<221> MOD_RES

<222> (5).. (5)

25

<223> Cualquier aminoácido

<220>

<221> VARIANTE

<222> (7).. (7)

<223> /sustituir="Ile"

30

<220>

<221> VARIANTE

<222> (8).. (8)

<223> /sustituir="Arg" o "His"

<220>

5 <221> VARIANTE

<222> (10).. (10)

<223> /sustituir="Arg" o "His" o "Ala" o "Val" o "Leu" o "Ile" o "Pro" o "Phe" o "Trp" o "Met"

<220>

<221> misc_feature

10 <222> (1).. (12)

<223> /nota="Los residuos de variante dados en la secuencia no tienen ninguna preferencia con respecto a aquellos en las anotaciones para posiciones variantes"

<400> 3

Cys Lys Trp Asp Xaa Leu Thr Lys Gln Lys Val Cys
1 5 10

15 <210> 4

<211> 4

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

20 <221> fuente

<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial: péptido sintético"

<400> 4

Gly Gly Gly Gly
1

<210> 5

25 <211> 23

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

30 <223> /nota="Descripción de la secuencia artificial: péptido sintético"

<220>

<221> VARIANTE

<222> (12).. (12)

<223> /sustituir="Val"

<220>

<221> misc_feature

<222> (1).. (23)

5 <223> /nota="Los residuos de variante dados en la secuencia no tienen ninguna preferencia con respecto a aquellos en las anotaciones para posiciones variantes"

<400> 5

Gly Ser Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser Gly Ser Ser Ala Ser Ser Gly
1 5 10 15

Ser Gly Ser Ala Thr His Leu
20

<210> 6

<211> 23

10 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial: péptido sintético"

15 <400> 6

Gly Ser Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser Gly Ser Val Ala Ser Ser Gly
1 5 10 15

Ser Gly Ser Ala Thr His Leu
20

<210> 7

<211> 23

<212> PRT

20 <213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial: péptido sintético"

<400> 7

Gly Ser Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser Gly Ser Ser Ala Ser Ser Gly
1 5 10 15

Ser Gly Ser Ala Thr His Leu
20

25

<210> 8

<211> 11

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

5 <220>

<221> fuente

<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial: péptido sintético"

<400> 8

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Trp Leu Ala
1 5 10

10 <210> 9

<211> 7

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <221> fuente

<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial: péptido sintético"

<400> 9

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser
1 5

<210> 10

20 <211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

25 <223> /nota="Descripción de la secuencia artificial: péptido sintético"

<400> 10

Gln Gln Tyr Asp Ser Tyr Pro Arg Thr
1 5

<210> 11

<211> 5

30 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial: péptido sintético"

<400> 11

Ser Tyr Trp Met Ser
1 5

5 <210> 12

<211> 17

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <221> fuente

<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial: péptido sintético"

<400> 12

Tyr Ile Lys Gln Asp Gly Asn Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 13

15 <211> 12

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

20 <223> /nota="Descripción de la secuencia artificial: péptido sintético"

<400> 13

Glu Gly Ile Leu Trp Phe Gly Asp Leu Pro Thr Phe
1 5 10

<210> 14

<211> 108

25 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético"

30 <400> 14

ES 2 687 299 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 Ser Asn Trp
 20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Glu Lys Ala Pro Lys Ser 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 Tyr Asp Ser Tyr Pro Arg
 85 90 95

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

<210> 15

<211> 121

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético"

10 <400> 15

ES 2 687 299 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 Ser Tyr
 20 25 30

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

Ala Tyr Ile Lys Gln Asp Gly Asn Glu Lys Tyr Tyr Val 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 Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg Glu Gly Ile Leu Trp Phe Gly Asp Leu Pro Thr Phe Trp Gly
 100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 16

<211> 509

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 16

ES 2 687 299 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 Ser Tyr
 20 25 30
 Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Tyr Ile Lys Gln Asp Gly Asn Glu Lys Tyr Tyr Val 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 Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Glu Gly Ile Leu Trp Phe Gly Asp Leu Pro Thr Phe Trp Gly
 100 105 110
 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
 115 120 125
 Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala
 130 135 140
 Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
 145 150 155 160
 Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
 165 170 175
 Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
 180 185 190
 Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His
 195 200 205
 Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys
 210 215 220
 Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val

ES 2 687 299 T3

225 230 235 240
 Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
 245 250 255
 Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
 260 265 270
 Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
 275 280 285
 Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser
 290 295 300
 Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
 305 310 315 320
 Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
 325 330 335
 Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
 340 345 350
 Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
 355 360 365
 Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
 370 375 380
 Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser
 385 390 395 400
 Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
 405 410 415
 Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
 420 425 430
 His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly
 435 440 445
 Gly Gly Leu Pro Gly Cys Lys Trp Asp Leu Leu Ile Lys Gln Trp Val
 450 455 460
 Cys Asp Pro Leu Gly Ser Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser Gly Ser Gly
 465 470 475 480

Ala Ser Ser Gly Ser Gly Ser Ala Thr Gly Ser Leu Pro Gly Cys Lys
485 490 495

Trp Asp Leu Leu Ile Lys Gln Trp Val Cys Asp Pro Leu
500 505

<210> 17

<211> 511

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 17

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

ES 2 687 299 T3

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

ES 2 687 299 T3

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

Gly Gly Gly Gly Leu Pro Gly Cys Lys Trp Asp Leu Leu Ile Lys Gln
450 455 460

Trp Val Cys Asp Pro Leu Gly Ser Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser Gly
465 470 475 480

Ser Val Ala Ser Ser Gly Ser Gly Ser Ala Thr His Leu Leu Pro Gly
485 490 495

Cys Lys Trp Asp Leu Leu Ile Lys Gln Trp Val Cys Asp Pro Leu
500 505 510

<210> 18

<211> 511

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 18

ES 2 687 299 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 Ser Tyr
 20 25 30
 Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Tyr Ile Lys Gln Asp Gly Asn Glu Lys Tyr Tyr Val 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 Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Glu Gly Ile Leu Trp Phe Gly Asp Leu Pro Thr Phe Trp Gly
 100 105 110
 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
 115 120 125

ES 2 687 299 T3

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

ES 2 687 299 T3

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

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

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

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

Gly Gly Gly Gly Leu Pro Gly Cys Lys Trp Asp Leu Leu Ile Lys Gln
450 455 460

Trp Val Cys Asp Pro Leu Gly Ser Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser Gly
465 470 475 480

Ser Ser Ala Ser Ser Gly Ser Gly Ser Ala Thr His Leu Leu Pro Gly
485 490 495

Cys Lys Trp Asp Leu Leu Ile Lys Gln Trp Val Cys Asp Pro Leu
500 505 510

<210> 19

<211> 214

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 19

ES 2 687 299 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 Ser Asn Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Glu Lys Ala Pro Lys Ser 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 Tyr Asp Ser Tyr Pro Arg
 85 90 95

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

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

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

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

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

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

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

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210

<210> 20

<211> 9

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial: péptido sintético"

<220>

10 <221> MOD_RES

<222> (2).. (9)

<223> Cualquier aminoácido

<400> 20

Cys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5

<210> 21

<211> 5

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial: péptido sintético"

<400> 21

Leu Glu Trp Ile Gly
1 5

10

<210> 22

<211> 4

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15 <220>

<221> fuente

<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial: péptido sintético"

<220>

<221> MOD_RES

20 <222> (3).. (3)

<223> Cualquier aminoácido

<400> 22

Trp Gly Xaa Gly
1

<210> 23

25 <211> 4

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

30 <223> /nota="Descripción de la secuencia artificial: péptido sintético"

<220>

<221> MOD_RES

<222> (3).. (3)

<223> Cualquier aminoácido

<400> 23

Phe Gly Xaa Gly
1

5 <210> 24

<211> 23

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <221> fuente

<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial: péptido sintético"

<400> 24

Gly Ser Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser Gly Ser Gly Ala Ser Ser Gly
1 5 10 15

Ser Gly Ser Ala Thr Gly Ser
20

<210> 25

15 <211> 447

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

20 <223> /nota="Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 25

ES 2 687 299 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 Ser Tyr
 20 25 30
 Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Tyr Ile Lys Gln Asp Gly Asn Glu Lys Tyr Tyr Val 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 Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Glu Gly Ile Leu Trp Phe Gly Asp Leu Pro Thr Phe Trp Gly
 100 105 110
 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
 115 120 125
 Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala
 130 135 140
 Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
 145 150 155 160
 Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
 165 170 175

ES 2 687 299 T3

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 26

<211> 508

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 26

ES 2 687 299 T3

Leu Pro Gly Cys Lys Trp Asp Leu Leu Ile Lys Gln Trp Val Cys Asp
 1 5 10 15

Pro Leu Gly Ser Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser Gly Ser Gly Ala Ser
 20 25 30

Ser Gly Ser Gly Ser Ala Thr Gly Ser Leu Pro Gly Cys Lys Trp Asp
 35 40 45

Leu Leu Ile Lys Gln Trp Val Cys Asp Pro Leu Gly Gly Glu Val Gln
 50 55 60

Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg
 65 70 75 80

Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Trp Met Ser
 85 90 95

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Tyr Ile
 100 105 110

Lys Gln Asp Gly Asn Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val Lys Gly Arg
 115 120 125

Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met
 130 135 140

Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Glu
 145 150 155 160

Gly Ile Leu Trp Phe Gly Asp Leu Pro Thr Phe Trp Gly Gln Gly Thr
 165 170 175

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
 180 185 190

ES 2 687 299 T3

Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly
 195 200 205
 Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
 210 215 220
 Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
 225 230 235 240
 Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
 245 250 255
 Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser
 260 265 270
 Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys
 275 280 285
 Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
 290 295 300
 Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
 305 310 315 320
 Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe
 325 330 335
 Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
 340 345 350
 Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr
 355 360 365
 Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
 370 375 380
 Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr
 385 390 395 400
 Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
 405 410 415
 Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
 420 425 430
 Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro

ES 2 687 299 T3

	435		440		445										
Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Met	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser
	450					455					460				
Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln
465					470					475					480
Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His
				485					490					495	
Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys				
			500					505							

<210> 27

<211> 275

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 27

ES 2 687 299 T3

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

ES 2 687 299 T3

130		135		140														
Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Tyr	Asp	Ser	Tyr	Pro	Arg	Thr	Phe	Gly			
145					150					155					160			
	Gln	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys	Arg	Thr	Val	Ala	Ala	Pro	Ser	Val		
				165						170					175			
	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu	Gln	Leu	Lys	Ser	Gly	Thr	Ala	Ser		
				180					185					190				
	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala	Lys	Val	Gln		
			195					200					205					
	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln	Ser	Gly	Asn	Ser	Gln	Glu	Ser	Val		
		210					215					220						
	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser	Thr	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Thr	Leu		
	225					230					235					240		
	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys	His	Lys	Val	Tyr	Ala	Cys	Glu		
				245						250					255			
	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser	Pro	Val	Thr	Lys	Ser	Phe	Asn	Arg		
			260						265					270				
	Gly	Glu	Cys															
			275															

<210> 28

<211> 511

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 28

ES 2 687 299 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 Ser Tyr
 20 25 30

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

Ala Tyr Ile Lys Gln Asp Gly Asn Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val

Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
 305 310 315 320
 Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
 325 330 335
 Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
 340 345 350
 Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
 355 360 365
 Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
 370 375 380
 Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser
 385 390 395 400
 Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
 405 410 415
 Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
 420 425 430
 His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly
 435 440 445
 Gly Gly Leu Pro Gly Cys Lys Trp Asp Leu Leu Ile Lys Gln Trp Val
 450 455 460
 Cys Asp Pro Leu Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 465 470 475 480
 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Leu Pro Gly
 485 490 495
 Cys Lys Trp Asp Leu Leu Ile Lys Gln Trp Val Cys Asp Pro Leu
 500 505 510

<211> 510

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

5 <221> fuente

<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 29

ES 2 687 299 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 Ser Tyr
 20 25 30
 Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Tyr Ile Lys Gln Asp Gly Asn Glu Lys Tyr Tyr Val 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 Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Glu Gly Ile Leu Trp Phe Gly Asp Leu Pro Thr Phe Trp Gly
 100 105 110
 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
 115 120 125
 Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala
 130 135 140
 Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
 145 150 155 160
 Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
 165 170 175
 Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
 180 185 190
 Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His
 195 200 205
 Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys
 210 215 220
 Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val
 225 230 235 240
 Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
 245 250 255

ES 2 687 299 T3

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

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

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

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

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

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

Pro Ser Arg Glu Glu Met Gly Gly Leu Pro Gly Cys Lys Trp Asp Leu
 355 360 365

Leu Ile Lys Gln Trp Val Cys Asp Pro Leu Gly Ser Gly Ser Ala Thr
 370 375 380

Gly Gly Ser Gly Ser Gly Ala Ser Ser Gly Ser Gly Ser Ala Thr Gly
 385 390 395 400

Ser Leu Pro Gly Cys Lys Trp Asp Leu Leu Ile Lys Gln Trp Val Cys
 405 410 415

Asp Pro Leu Gly Gly Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
 420 425 430

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
 435 440 445

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp
 450 455 460

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
 465 470 475 480

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
 485 490 495

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 500 505 510

<210> 30

<211> 490

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

5 <220>

<221> fuente

<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 30

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

ES 2 687 299 T3

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys
 210 215 220
 Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val
 225 230 235 240
 Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
 245 250 255
 Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
 260 265 270
 Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
 275 280 285
 Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser
 290 295 300
 Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
 305 310 315 320
 Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
 325 330 335
 Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
 340 345 350
 Pro Ser Arg Glu Glu Met Gly Gly Leu Pro Gly Cys Lys Trp Asp Leu
 355 360 365
 Leu Ile Lys Gln Trp Val Cys Asp Pro Leu Gly Gly Thr Lys Asn Gln
 370 375 380
 Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
 385 390 395 400
 Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
 405 410 415
 Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu
 420 425 430
 Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
 435 440 445
 Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser

ES 2 687 299 T3

450

455

460

Leu Ser Pro Gly Gly Gly Gly Gly Leu Pro Gly Cys Lys Trp Asp Leu
465 470 475 480

Leu Ile Lys Gln Trp Val Cys Asp Pro Leu
485 490

<210> 31

<211> 491

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 31

ES 2 687 299 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 Ser Tyr
 20 25 30
 Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Tyr Ile Lys Gln Asp Gly Asn Glu Lys Tyr Tyr Val 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 Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Glu Gly Ile Leu Trp Phe Gly Asp Leu Pro Thr Phe Trp Gly
 100 105 110
 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
 115 120 125
 Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala
 130 135 140
 Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
 145 150 155 160
 Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
 420 425 430

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
 435 440 445

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

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
 465 470 475 480

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 485 490

<210> 32

<211> 293

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 32

ES 2 687 299 T3

Met Leu Pro Gly Cys Lys Trp Asp Leu Leu Ile Lys Gln Trp Val Cys
 1 5 10 15

Asp Pro Leu Gly Ser Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser Gly Ser Thr Ala
 20 25 30

Ser Ser Gly Ser Gly Ser Ala Thr His Met Leu Pro Gly Cys Lys Trp
 35 40 45

Asp Leu Leu Ile Lys Gln Trp Val Cys Asp Pro Leu Gly Gly Gly Gly
 50 55 60

Gly Val Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu
 65 70 75 80

Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
 85 90 95

Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
 100 105 110

Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
 115 120 125

ES 2 687 299 T3

Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser
 130 135 140

Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
 145 150 155 160

Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala
 165 170 175

Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
 180 185 190

Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln
 195 200 205

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

Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
 225 230 235 240

Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu
 245 250 255

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
 260 265 270

Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
 275 280 285

Leu Ser Pro Gly Lys
 290

<210> 33

<211> 232

<212> PRT

5 <213> *Homo sapiens*

<400> 33

ES 2 687 299 T3

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

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

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

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val

ES 2 687 299 T3

50 55 60

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
225 230

<210> 34

<211> 228

<212> PRT

5 <213> *Homo sapiens*

ES 2 687 299 T3

<400> 34

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

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

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

ES 2 687 299 T3

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Pro Gly Lys
225

<210> 35

<211> 279

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<400> 35

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

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

ES 2 687 299 T3

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

<210> 36

<211> 229

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

5 <400> 36

ES 2 687 299 T3

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

Leu Ser Leu Gly Lys
225

<210> 37

<211> 4

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial: péptido sintético"

<400> 37

Gly Gly Gly Ser
1

10

<210> 38

<211> 4

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15 <220>

<221> fuente

<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial: péptido sintético"

<400> 38

Gly Gly Gly Pro
1

20 <210> 39

<211> 4

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

25 <221> fuente

<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial: péptido sintético"

<400> 39

Gly Gly Gly Gln
1

<210> 40

30 <211> 5

<212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <221> fuente
 5 <223> /nota="Descripción de la secuencia artificial: péptido sintético"
 <400> 40
Gly Gly Gly Gly Gly
1 5
 <210> 41
 <211> 54
 10 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de la secuencia artificial: oligonucleótido sintético"
 15 <400> 41
ctgccggggtt gtaaattggga cctgctgatc aaacagtggg tttgtgacct gctg 54
 <210> 42
 <211> 12
 <212> ADN
 20 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de la secuencia artificial: oligonucleótido sintético"
 <400> 42
ggtaggtggtg gt 12
 25 <210> 43
 <211> 69
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 30 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de la secuencia artificial: oligonucleótido sintético"
 <220>
 <221> modified_base

	<222> (36).. (36)	
	<223> a, c, t, g, desconocida u otra	
	<400> 43	
	ggatccggtt ctgctactgg tggttccggc tccdbngcaa gctctgggtc aggcagtgcg	60
	actcatctg	69
5	<210> 44	
	<211> 69	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
10	<221> fuente	
	<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial: oligonucleótido sintético"	
	<400> 44	
	ggatccggtt ctgctactgg tggttccggc tccgtcgcaa gctctgggtc aggcagtgcg	60
	actcatctg	69
	<210> 45	
15	<211> 69	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<221> fuente	
20	<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial: oligonucleótido sintético"	
	<400> 45	
	ggatccggtt ctgctactgg tggttccggc tcctcggcaa gctctgggtc aggcagtgcg	60
	actcatctg	69
	<210> 46	
	<211> 33	
25	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<221> fuente	
	<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial: oligonucleótido sintético"	
30	<400> 46	
	cgggcgagtc agggattag caactggta gcc	33

<210> 47
 <211> 21
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 5 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de la secuencia artificial: oligonucleótido sintético"
 <400> 47
gctgcatcca gtttgcaaag t **21**

10 <210> 48
 <211> 27
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 15 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de la secuencia artificial: oligonucleótido sintético"
 <400> 48
caacagtatg atagttaccc tcggacg **27**

20 <210> 49
 <211> 15
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <221> fuente
 25 <223> /nota="Descripción de la secuencia artificial: oligonucleótido sintético"
 <400> 49
agttattgga tgagt **15**

<210> 50
 <211> 51
 30 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de la secuencia artificial: oligonucleótido sintético"
 35 <400> 50

	tacataaagc aagatggaaa tgagaaatac tatgtggact ctgtgaaggg c	51
	<210> 51	
	<211> 36	
	<212> ADN	
5	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<221> fuente	
	<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial: oligonucleótido sintético"	
	<400> 51	
10	gaagggatac tttgggtcgg ggacttaccg acgttc	36
	<210> 52	
	<211> 324	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
15	<220>	
	<221> fuente	
	<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial: polinucleótido sintético"	
	<400> 52	
	gacatccaga tgaccagtc tccatcctca ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc	60
	atcacttgtc gggcgagtca gggattagc aactggtag cctggatca gcagaaacca	120
	gagaaagccc ctaagtcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca	180
	aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct	240
	gaagattttg caacttatta ctgccaacag tatgatagtt accctcggac gttcggccaa	300
20	gggaccaagg tggaaatcaa acga	324
	<210> 53	
	<211> 363	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
25	<220>	
	<221> fuente	
	<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial: polinucleótido sintético"	
	<400> 53	

ES 2 687 299 T3

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtccagc ctggggggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cttctggatt tacctttagt agttattgga tgagttgggt ccgccaggct 120
 ccagggaaag ggctggagtg ggtggcctac ataaagcaag atggaaatga gaaatactat 180
 gtggactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ct cattgtat 240
 ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gaggggaaggg 300
 atactttggt tcggggactt accgacgttc tggggccagg gaaccctggt caccgtctct 360
 agt 363

<210> 54

<211> 1527

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 54

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtccagc ctggggggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cttctggatt tacctttagt agttattgga tgagttgggt ccgccaggct 120
 ccagggaaag ggctggagtg ggtggcctac ataaagcaag atggaaatga gaaatactat 180
 gtggactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ct cattgtat 240
 ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gaggggaaggg 300
 atactttggt tcggggactt accgacgttc tggggccagg gaaccctggt caccgtctct 360
 agtgcctcca ccaagggccc atcggctctc ccctggcgc cctgctccag gagcacctcc 420
 gagagcacag cggccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg 480
 tcgtggaact cagggcgtct gaccagcggc gtgcacacct tcccagctgt cctacagtcc 540
 tcaggactct actccctcag cagcgtggta acgggtgcct cctcaaattt cgggacgcag 600
 acatatacat gcaatgtgga tcataagcct tccaacacga aggtggacaa gactgtggag 660
 cgggaagtgt gcgtcgagtg cccaccgtgt cccgctcctc cggctcgtgg cccatcagta 720

10

ES 2 687 299 T3

tttctcttcc ctccaagcc aaaagataca ctcatgatct caagaacccc agaagtgact	780
tgtgtgggtcg tggacgtgtc gcatgaggat cgggaggtgc agtttaactg gtatgtggat	840
ggcgtagaag tccacaacgc caagaccaag cctagagagg aacaattcaa ctcgacgttc	900
aggggtgggtca gcgtgttgac agtagtccac caggactggc ttaatgggaa ggaatacaaaa	960
tgtaaggtct caaaciaaagg gctcccggca cccattgaga agacaatttc caaaaccaag	1020
ggacagccca gggaaaccca agtgtatacg ctgcccccaa gccgggagga aatgacgaaa	1080
aatcaggtca gcctcacgtg tctcgtaaag ggattttacc cgtcggacat cgcggtggag	1140
tgggagtcaa atggacagcc cgaaaacaac tataagacca caccaccgat gctcgactcc	1200
gacggaagct tctttttgta ctcgaaactg acggtggaca aatcgcgctg gcaacagggg	1260
aatgtcttta gctgctcggg catgcacgag gccctccaca atcattacac tcagaaaagc	1320
ttgtcgctct cgccgggtgg ggggtggagga ctgcccgggt gcaaattggga tctgttgatc	1380
aaacagtggg tatgcgacct tttgggaagc ggctcggcga cgggtgggtc ggggtcgggt	1440
gcgtccagcg gatcgggctc ggccactggg tcaactcctg gatgcaagtg ggatcttctt	1500
atcaagcaat ggggtgtgca tcccctc	1527

<210> 55

<211> 1533

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 55

ES 2 687 299 T3

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtccagc ctgggggggc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cttctggatt tacctttagt agttattgga tgagttgggt ccgccaggct 120
 ccagggaaag ggctggagtg ggtggcctac ataaagcaag atggaaatga gaaatactat 180
 gtggactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ct cattgtat 240
 ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gaggggaaggg 300
 atactttggg tgggggactt accgacgttc tggggccagg gaaccctggg caccgtctct 360
 agtgcctcca ccaagggccc atcggctctc cccctggcgc cctgctccag gagcacctcc 420
 gagagcacag cggccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacgggtg 480
 tcgtggaact caggcgctct gaccagcggc gtgcacacct tcccagctgt cctacagtcc 540
 tcaggactct actccctcag cagcgtggta acgggtgcct cctcaaattt cgggacgcag 600
 acatatacat gcaatgtgga tcataagcct tccaacacga aggtggacaa gactgtggag 660
 cggaagtgtt gcgtcgagtg cccaccgtgt cccgctcctc cggtcgctgg cccatcagta 720
 tttctcttcc ctccaagcc aaaagataca ctcatgatct caagaacccc agaagtgact 780
 tgtgtggtcg tggacgtgtc gcatgaggat ccggaggtgc agtttaactg gtatgtggat 840
 ggcgtagaag tccacaacgc caagaccaag cctagagagg aacaattcaa ctgcagcttc 900
 aggggtggta gcgtgttgac agtagtccac caggactggc ttaatgggaa ggaatacaaa 960
 tgtaaggtct caaacaagg gctcccgga cccattgaga agacaatttc caaaaccaag 1020
 ggacagccca ggaacccca agtgtatacg ctgccccca gccgggagga aatgacgaaa 1080
 aatcaggtca gcctcacgtg tctcgtaaag ggattttacc cgtcggacat cgcggtggag 1140
 tgggagtcaa atggacagcc cgaaaacaac tataagacca caccaccgat gctcagactcc 1200
 gacggaagct tctttttgta ctcgaaactg acgggtggaca aatcgcgctg gcaacagggg 1260
 aatgtcttta gctgctcggg catgcacgag gccctccaca atcattacac tcagaaaagc 1320
 ttgtcgtctc cgccgggtaa aggtggtggg ggtggtctgc cggggtgtaa atgggacctg 1380
 ctgatcaaac agtgggtttg tgaccogctg ggatccggtt ctgctactgg tggttccggc 1440
 tccgtcgcga gctctgggtc aggcagtgcg actcatctgc tgccggggtg taaatgggac 1500
 ctgctgatca aacagtgggt ttgtgacctg ctg 1533

<210> 56

<211> 1533

5 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

ES 2 687 299 T3

<221> fuente

<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 56

```

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggagggc ttggtccagc ctgggggggtc cctgagactc      60
tcctgtgcag cttctggatt tacctttagt agttattgga tgagttgggt ccgccaggct      120
ccagggaaag ggctggagtg ggtggcctac ataaagcaag atggaaatga gaaatactat      180
gtggactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctcatgtgat      240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagggaaggg      300
atactttggt tcggggactt accgacgttc tggggccagg gaaccctggt caccgtctct      360
agtgcctcca ccaagggccc atcggctctc cccctggcgc cctgctccag gagcacctcc      420
gagagcacag cggccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg      480
tcgtggaact caggcgctct gaccagcggc gtgcacacct tcccagctgt cctacagtcc      540
tcaggactct actccctcag cagcgtggta acgggtgccct cctcaaattt cgggacgcag      600
acatatacat gcaatgtgga tcataagcct tccaacacga aggtggacaa gactgtggag      660

cggaagtgtt gcgtcgagtg cccaccgtgt cccgctcctc cggtcgctgg cccatcagta      720
tttctcttcc ctccaagcc aaaagataca ctcatgatct caagaacccc agaagtgact      780
tgtgtggtcg tggacgtgtc gcatgaggat ccggaggtgc agtttaactg gtatgtggat      840
ggcgtagaag tccacaacgc caagaccaag cctagagagg aacaattcaa ctcgacgttc      900
agggtggtca gcgtgttgac agtagtccac caggactggc ttaatgggaa ggaatacaaa      960
tgtaaggtct caaacaaggg gctcccggca cccattgaga agacaatttc caaaaccaag     1020
ggacagccca ggaacccca agtgtatacg ctgccccca gcccgggagga aatgacgaaa     1080
aatcagggtca gcctcacgtg tctcgtaaag ggattttacc cgtcggacat cgcggtggag     1140
tgggagtcaa atggacagcc cgaaaacaac tataagacca caccaccgat gctcgactcc     1200
gacggaagct tctttttgta ctcgaaactg acgggtggaca aatcgcgctg gcaacagggg     1260
aatgtcttta gctgctcggg catgcacgag gccctccaca atcattacac tcagaaaagc     1320
ttgtcgctct cgccgggtaa aggtggtggt ggtggtctgc cggggtgtaa atgggacctg     1380
ctgatcaaac agtggggttg tgaccogctg ggatccggtt ctgctactgg tggttccggc     1440
tcctcggcaa gctctggttc aggcagtgcg actcatctgc tgccgggttg taaatgggac     1500
ctgctgatca aacagtgggt ttgtgacctg ctg      1533

```

5

<210> 57

<211> 642

ES 2 687 299 T3

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

5 <223> /nota="Descripción de la secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 57

gacatccaga tgaccagtc tccatcctca ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc	60
atcacttgtc gggcgagtca gggatttagc aactggttag cctggatatca gcagaaacca	120
gagaaagccc ctaagtcctt gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca	180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct	240
gaagattttg caacttatta ctgccaacag tatgatagtt accctcggac gttcggccaa	300
gggaccaagg tggaaatcaa acgaactgtg gctgcacat ctgtcttcat cttcccgcc	360
tctgatgagc agttgaaatc tggaaactgcc tctggtgtgt gcctgctgaa taacttctat	420
cccagagagg ccaaagtaca gtggaaggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag	480
gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg	540
ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc	600
ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gt	642

<210> 58

10 <211> 69

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

15 <223> /nota="Descripción de la secuencia artificial: oligonucleótido sintético"

<400> 58

ggaagcggct cggcgacggg tgggtcgggg tcgggtgcgt ccagcggatc gggctcggcc	60
actgggtca	69

<210> 59

<211> 1341

20 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

ES 2 687 299 T3

<221> fuente

<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 59

gaggtgcagc	tggtggagtc	tgggggaggc	ttggtccagc	ctggggggtc	cctgagactc	60
tcctgtgcag	cttctggatt	tacctttagt	agttattgga	tgagttgggt	ccgccaggct	120
ccagggaaag	ggctggagtg	ggtggcctac	ataaagcaag	atggaaatga	gaaatactat	180
gtggactctg	tgaagggccg	attcaccatc	tccagagaca	acgccaagaa	ctcattgtat	240
ctgcaaatga	acagcctgag	agccgaggac	acggctgtgt	attactgtgc	gaggggaaggg	300
atactttggt	tcggggactt	accgacgttc	tggggccagc	gaaccctggt	caccgtctct	360
agtgcctcca	ccaagggccc	atcggctctc	cccctggcgc	cctgctccag	gagcacctcc	420
gagagcacag	cggccctggg	ctgcctggtc	aaggactact	tccccgaacc	ggtgacggtg	480
tcgtggaact	cagggcgtct	gaccagcggc	gtgcacacct	tcccagctgt	cctacagtcc	540
tcaggactct	actccctcag	cagcgtggta	acgggtgcct	cctcaaattt	cgggacgcag	600
acatacat	gcaatgtgga	tcataagcct	tccaacacga	aggtggacia	gactgtggag	660
cggaagtgtt	gcgtcgagtg	cccaccgtgt	cccgtcctc	cggtcgctgg	cccatcagta	720
tttctcttcc	ctcccaagcc	aaaagataca	ctcatgatct	caagaacccc	agaagtgact	780
tgtgtggtcg	tggacgtgtc	gcatgaggat	ccggaggtgc	agtttaactg	gtatgtggat	840
ggcgtagaag	tccacaacgc	caagaccaag	cctagagagg	aacaattcaa	ctcgacgttc	900
agggtggtca	gcgtgttgac	agtagtccac	caggactggc	ttaatgggaa	ggaatacaaa	960
tgtaaggctc	caaacaaagc	gctcccggca	cccattgaga	agacaatttc	caaaaccaag	1020
ggacagccca	gggaacccca	agtgtatacg	ctgcccccaa	gccgggagga	aatgacgaaa	1080
aatcaggtca	gcctcacgtg	tctcgtaaag	ggattttacc	cgtcggacat	cgcggtggag	1140
tgggagtcaa	atggacagcc	cgaaaacaac	tataagacca	caccaccgat	gctcgactcc	1200
gacggaagct	tctttttgta	ctcgaaactg	acgggtggaca	aatcgcgctg	gcaacagggg	1260
aatgtcttta	gctgctcggg	catgcacgag	gccctccaca	atcattacac	tcagaaaagc	1320
ttgtcgtctc	cgccgggtaa	a				1341

5

<210> 60

<211> 1524

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

10

<220>

ES 2 687 299 T3

<221> fuente

<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 60

```

cttcccggat gcaagtggga tctgttgatc aagcaatggg tctgcgaccc tctcgggtca      60
gggtccgcga ccggtggatc ggggtcggga gcgtcatcgg gcagcgggaag cgctacggga      120
tcacttcccg ggtgcaaatg ggacctcctg atcaaacaat gggtatgtga tccgctcggc      180
ggcgaggtgc agctggtgga gtctggggga ggcttgggcc agcctggggg gtccctgaga      240
ctctcctgtg cagcttctgg atttaccttt agtagttatt ggatgagttg ggtccgccag      300
gctccagga aagggctgga gtgggtggcc tacataaagc aagatggaaa tgagaaatac      360
tatgtggact ctgtgaaggg ccgattcacc atctccagag acaacgcaa gaactcattg      420
tatctgcaaa tgaacagcct gagagccgag gacacggctg tgtattactg tgcgagggaa      480
gggatacttt ggttcgggga cttaccgacg ttctggggcc agggaaccct ggtcaccgtc      540
tctagtgcct ccaccaaggg cccatcggtc tccccctgg cgccctgctc caggagcacc      600
tccgagagca cagcggccct gggctgcctg gtcaaggact acttccccga accggtgacg      660
gtgtcgtgga actcagggcg tctgaccagc ggcgtgcaca ccttcccagc tgtcctacag      720
tcctcaggac tctactccct cagcagcgtg gtgaccgtgc cctccagcaa cttcggcacc      780
cagacctaca cctgcaacgt agatcacaag cccagcaaca ccaaggtgga caagacagtt      840
gagcgcaaat gttgtgtcga gtgccaccg tgcccagcac cacctgtggc aggaccgtca      900
gtcttctct tcccccaaa acccaaggac accctcatga tctcccggac cctgaggtc      960
acgtgcgtgg tgggtggacgt gagccacgaa gaccccagag tccagttcaa ctggtacgtg     1020
gacggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca aagccacggg aggagcagtt caacagcacg     1080
ttccgtgtgg tcagcgtcct caccgttgtg caccaggact ggctgaacgg caaggagtac     1140
aagtgcaagg tctccaacia aggcctccca gccccatcg agaaaaccat ctccaaaacc     1200
aaagggcagc cccgagaacc acaggtgtac accctgcccc catcccggga ggagatgacc     1260
aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggtc aaaggcttct accccagoga catcgccgtg     1320
gagtgggaga gcaatgggca gccggagaac aactacaaga ccacacctcc catgctggac     1380
tccgacggct ccttcttct ctacagcaag ctcaccgtgg acaagagcag gtggcagcag     1440
gggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat gaggctctgc acaaccacta cacgcagaag     1500
agcctctccc tgtctccggg taaa                                     1524

```

5

<210> 61

<211> 825

ES 2 687 299 T3

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

5 <223> /nota="Descripción de la secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 61

ctccctgggt gcaaatggga cctgttgatt aagcagtggg tctgcgacct tctcggatcg	60
ggaagcgcaa ctgggggttc aggctcaggg gctagctccg gatcggggtc ggccacaggg	120
tcgctccccg gatgtaagtg ggaccttttg attaaacagt ggggtgtgca tccacttggga	180
ggtgatatcc agatgacaca gtcaccctcg tcggtgagcg ccagcgtggg agatagagtg	240
acgatcacct gtcgagccag ccagggcatc tccaactggc ttgctgtgta ccaacaaaag	300
cccgagaag gaccgaaatc gctgatctac gcggcgtcgt cactgcagtc ggggtgaccg	360
tcgctggtta gcgggtccgg gtccggaacg gacttcacgc tcacgatttc ctcatcgcag	420
ccggaagatt ttgctgacta ttactgtcag caatatgact catatccccg cacattcggg	480
cagggaaacca aggtcgagat caaacgtacg gtggctgcac catctgtctt catcttcccc	540
ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tgtgcctgct gaataacttc	600
tatcccagag aggccaaagt acagtggaag gtggataacg ccctccaatc gggtaactcc	660
caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcaccctg	720
acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt caccatcag	780
ggcctgagct cgcccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtgt	825

<210> 62

<211> 1533

10 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial: polinucleótido sintético"

15 <400> 62

ES 2 687 299 T3

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtccagc ctggggggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cttctggatt tacctttagt agttattgga tgagttgggt ccgccaggct 120
 ccagggaaag ggctggagtg ggtggcctac ataaagcaag atggaaatga gaaatactat 180
 gtggactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ct cattgtat 240
 ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gaggggaagg 300
 atactttggt tgggggactt accgacgttc tggggccagg gaaccctggt caccgtctct 360
 agtgcctcca ccaagggccc atcggctctc cccctggcgc cctgctccag gagcacctcc 420
 gagagcacag cggccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg 480
 tcgtggaact caggcgctct gaccagcggc gtgcacacct tcccagctgt cctacagtcc 540
 tcaggactct actccctcag cagcgtggta acggtgccct cctcaaattt cgggacgcag 600
 acatatacat gcaatgtgga tcataagcct tccaacacga aggtggacaa gactgtggag 660
 cggaaagtgt gcgctgagtg cccaccgtgt cccgctcctc cggtcgctgg cccatcagta 720
 tttctcttcc ctccaagcc aaaagataca ctcatgatct caagaacccc agaagtgact 780
 tgtgtggtcg tggacgtgtc gcatgaggat ccggaggtgc agtttaactg gtatgtggat 840
 ggcgtagaag tccacaacgc caagaccaag cctagagagg aacaattcaa ctgcagcttc 900
 agggtggtca gcgtgttgac agtagtccac caggactggc ttaatgggaa ggaatacaaa 960
 tgtaaggtct caaacaaggg gctcccggca cccattgaga agacaatttc caaaaccaag 1020
 ggacagccca ggaacccca agtgtatacg ctgccccca gccgggagga aatgacgaaa 1080
 aatcagggtca gcctcacgtg tctcgtaaag ggattttacc cgtcggacat cgcggtggag 1140
 tgggagtcaa atggacagcc cgaaaacaac tacaaaacga cccacctat gctcgattcg 1200
 gacggcagct tctttttgta ttcaaagttg acagtggaca aatcgcgatg gcagcagggc 1260
 aacgtcttct catgttcagt aatgcatgag gcccttcaca accactacac gcagaagtcc 1320
 ctctcattgt cggcgggtgg ggggtggagga ctgcccgggt gcaagtggga cctcttgatc 1380
 aaacagtggg tatgacgacc tttgggaggg ggtgggtcag gagggggagg ttccggtgga 1440
 ggtggttccg ggggagggcg atcaggaggt ggaggatcgt tgcccggctg taagtgggat 1500
 ctgctgatca agcagtgggt ctgtgatcct ttg 1533

<210> 63

<211> 1530

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

ES 2 687 299 T3

<221> fuente

<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 63

```

gagggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc ttgggtccagc ctgggggggtc cctgagactc      60
tcctgtgcag cttctggatt tacctttagt agttattgga tgagttgggt ccgccaggct      120
ccagggaaag ggctggagtg ggtggcctac ataaagcaag atggaaatga gaaatactat      180
gtggactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctcatgtat      240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagggaaggg      300
atactttggt tgggggactt accgacgttc tggggccagg gaaccctggt caccgtctct      360
agtgcctcca ccaagggccc atcggctctc ccctggcgc cctgctccag gagcacctcc      420
gagagcacag cggccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg      480
tcgtggaact cagggcgtct gaccagcggc gtgcacacct tcccagctgt cctacagtcc      540
tcaggactct actccctcag cagcgtggtg accgtgccct ccagcaactt cggcaccag      600
acctacacct gcaacgtaga tcacaagccc agcaacacca aggtggacaa gacagttgag      660
cgcaaatggt gtgtcgagtg cccaccgtgc ccagcaccac ctgtggcagg accgtcagtc      720
ttcctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcacg      780
tgcgtggtgg tggacgtgag ccacgaagac cccgaggtcc agttcaactg gtacgtggac      840
ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccacgggagg agcagttcaa cagcacgttc      900
cgtgtggtca gcgtcctcac cgttgtgcac caggactggc tgaacggcaa ggagtacaag      960
tgcaaggtct ccaacaaagg cctcccagcc cccatcgaga aaaccatctc caaaaccaa      1020
gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgccacctt cgcgggagga aatgggagga      1080
ctccccgggt gcaagtggga tcttcttata aaacagtggg tatgogaccc gctgggggtca      1140
gggtcagcga caggtggatc gggtagcggc gcatcgagcg gatcagggtc cgcgacgggc      1200
tcacttcccg gatgcaaatg ggacctcttg attaagcagt ggggtgtgtga cccgttgggt      1260
ggaacgaaga atcaggtctc gttgacgtgt ctggtgaagg ggttttatcc ctcgatatac      1320
gctgtcgagt gggagtcgaa tggacagccc gaaaacaact acaagaccac cccgcctatg      1380
ctggactccg atggttcctt ctttttgtac tcgaaactga ctgtggataa gagcaggtgg      1440
cagcaagga atgtattctc gtgttccgtc atgcacgaag ccctccataa ccaactataca      1500
caaaaatcgc tttcacttag cccgggaaaa      1530

```

5 <210> 64

<211> 1470

ES 2 687 299 T3

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

5 <223> /nota="Descripción de la secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 64

gaggtgcagc	tggtggagtc	tgggggaggc	ttggtccagc	ctggggggtc	cctgagactc	60
tcctgtgcag	cttctggatt	tacctttagt	agttattgga	tgagttgggt	ccgccaggct	120
ccagggaaag	ggctggagtg	ggtggcctac	ataaagcaag	atggaaatga	gaaatactat	180
gtggactctg	tgaagggccg	attcaccatc	tccagagaca	acgccaagaa	ctcattgtat	240
ctgcaaatga	acagcctgag	agccgaggac	acggctgtgt	attactgtgc	gaggggaaggg	300
atactttggg	tgggggactt	accgacgttc	tggggccagg	gaacctggt	caccgtctct	360
agtgcctcca	ccaagggccc	atcggctctc	cccctggcgc	cctgctccag	gagcacctcc	420
gagagcacag	cggccctggg	ctgcctggtc	aaggactact	tccccgaacc	ggtgacggtg	480
tcgtggaact	cagggcgtct	gaccagcggc	gtgcacacct	tcccagctgt	cctacagtcc	540
tcaggactct	actccctcag	cagcgtggtg	accgtgccct	ccagcaactt	cggcaccag	600
acctacacct	gcaacgtaga	tcacaagccc	agcaacacca	aggtggacaa	gacagttgag	660
cgcaaatggt	gtgtcgagtg	cccaccgtgc	ccagcaccac	ctgtggcagg	accgtcagtc	720
ttcctcttcc	ccccaaaacc	caaggacacc	ctcatgatct	cccggacccc	tgaggtcacg	780
tgcgtggtgg	tggacgtgag	ccacgaagac	cccgaggtcc	agttcaactg	gtacgtggac	840
ggcgtggagg	tgcataatgc	caagacaaag	ccacgggagg	agcagttcaa	cagcacgttc	900
cgtgtggtca	gcgtcctcac	cgttgtgcac	caggactggc	tgaacggcaa	ggagtacaag	960
tgcaaggtct	ccaacaaagg	cctcccagcc	cccctcgaga	aaaccatctc	caaaaccaa	1020
gggcagcccc	gagaaccaca	ggtgtacacc	ctgccgccct	cgagagaaga	gatgggcggg	1080
ttgccggggg	gtaagtggga	cttgctgatt	aaacaatggg	tgtgcgacct	tctgggcggt	1140
accaagaatc	aggtctcact	gacatgtctc	gtaaaagggt	tttaccctgc	agatatcgcg	1200
gtcgagtggg	aatccaacgg	acaacccgag	aataactaca	agacgactcc	cccaatgctc	1260
gattcggatg	gatccttctt	cctttatagc	aaacttacag	tagacaaatc	acggtggcag	1320
caggggaacg	tgtttagctg	ttcgggtgatg	cacgaagcct	tgcataatca	ctatacgag	1380
aagtcgcttt	ccctgtcgcc	gggaggggga	ggtgggctcc	ctggatgcaa	gtgggatctt	1440
ttgatcaagc	agtgggtctg	cgaccccctc				1470

<210> 65

<211> 1473

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

5 <220>

<221> fuente

<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 65

ES 2 687 299 T3

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtccagc ctgggggggc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cttctggatt tacctttagt agttattgga tgagttgggt ccgccaggct 120
 ccagggaaag ggctggagtg ggtggcctac ataaagcaag atggaaatga gaaatactat 180
 gtggactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ct cattgtat 240
 ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagggaaggg 300
 atactttggg tgggggactt accgacgttc tggggccagg gaaccctggg caccgtctct 360
 agtgcctcca ccaagggccc atcggctctc cccctggcgc cctgctccag gagcacctcc 420
 gagagcacag cggccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg 480
 tcgtggaact caggcgctct gaccagcggc gtgcacacct tcccagctgt cctacagtcc 540
 tcaggactct actccctcag cagcgtggtg accgtgccct ccagcaactt cggcacccag 600
 acctacacct gcaacgtaga tcacaagccc agcaacacca aggtggacaa gacagttgag 660
 cgcaaatggt gtgtcgagtg cccaccgtgc ccagcaccac ctgtggcagg accgtcagtc 720
 ttctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcacg 780
 tgcgtggtgg tggatgtaag ccatggggga ctgcctggat gcaagtggga tcttctcatt 840
 aagcaatggg tctgtgacct tttgggcgga gaggaccgag aagtccagtt caactggtac 900
 gtggacggcg tggaggtgca taatgccaaag acaaagccac gggaggagca gttcaacagc 960
 acgttccgtg tggtcagcgt cctcaccgtt gtgcaccagg actggctgaa cggcaaggag 1020
 tacaagtgca aggtctccaa caaaggcctc ccagcccca tcgagaaaac catctccaaa 1080
 accaaagggc agccccgaga accacaggtg tacaccctgc cgcctcagag agaagagatg 1140
 ggcgggttgc cgggggtgta gtgggacttg ctgattaaac aatgggtgtg cgaccctctg 1200
 ggcggtacca agaatcaggt ctcaactgaca tgtctcgtaa aaggttttta cccgtcagat 1260
 atcgcggtcg agtgggaatc caacggacaa cccgagaata actacaagac gactcccca 1320
 atgctcgatt cggatggatc cttcttcctt tatagcaaac ttacagtaga caaatcacgg 1380
 tggcagcagg ggaacgtggt tagctgttcg gtgatgcagc aagccttgca taatcactat 1440
 acgcagaagt cgctttccct gtctccgggt aaa 1473

<210> 66

<211> 879

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

ES 2 687 299 T3

<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial: polinucleótido sintético"

<400> 66

atgcttccag gttgtaaag ggatcttctt attaaacaat gggtttgtga tccacttgg	60
tctggttctg ctactgggtg ttccggctcc accgcaagct ctggttcagg ttctgctact	120
catatgctgc cgggttgtaa atgggacctg ctgatcaaac agtggggttg tgaccogctg	180
ggtggaggcg gtggggtcga caaaactcac acatgtccac cttgtccagc tccggaactc	240
ctggggggac cgtcagtctt cctcttcccc ccaaaaccca aggacaccct catgatctcc	300
cggaccctg aggtcacatg cgtgggtggtg gacgtgagcc acgaagacc tgaggtcaag	360
ttcaactggt acgtggacgg cgtggaggtg cataatgcc aagacaaagcc gcgggaggag	420
cagtacaaca gcacgtaccg tgtggtcagc gtcctcaccg tcctgcacca ggactggctg	480
aatggcaagg agtacaagtg caaggtctcc aacaaagccc tcccagcccc catcgagaaa	540
accatctcca aagccaaagg gcagccccga gaaccacagg tgtacaccct gccccatcc	600
cgggatgagc tgaccaagaa ccaggtcagc ctgacctgcc tgggtcaaagg cttctatccc	660
agcgacatcg ccgtggagtg ggagagcaat gggcagccgg agaacaacta caagaccacg	720
cctcccgtgc tggactccga cggctccttc ttctctaca gcaagctcac cgtggacaag	780
agcaggtggc agcaggggaa cgtcttctca tgctccgtga tgcattgagc tctgcacaac	840
cactacacgc agaagagcct ctccctgtct ccgggtaaa	879

<210> 67

5 <211> 696

<212> ADN

<213> *Homo sapiens*

<400> 67

ES 2 687 299 T3

gagcccaaat cttgtgacaa aactcacaca tgcccaccgt gcccagcacc tgaactcctg 60
 gggggaccgt cagtcttctt cttcccccca aaaccaaggt acacctcat gatctcccgg 120
 acccctgagg tcacatgctt ggtggtggac gtgagccacg aagacctga ggtcaagttc 180
 aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat aatgccaaga caaagccgcg ggaggagcag 240
 tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat 300
 ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac aaagccctcc cagcccccat cgagaaaacc 360
 atctccaaag ccaaagggca gccccgagaa ccacaggtgt acacctgcc cccatcccgg 420
 gatgagctga ccaagaacca ggtcagcctg acctgcctgg tcaaaggctt ctatcccagc 480
 gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg cagccggaga acaactaaa gaccacgcct 540
 cccgtgctgg actccgacgg ctcttcttct ctctatagca agctcaccgt ggacaagagc 600
 aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac 660
 tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg ggtaaa 696

<210> 68

<211> 684

<212> ADN

5 <213> *Homo sapiens*

<400> 68

gagcgcaaat gttgtgtcga gtgcccaccg tgcccagcac cacctgtggc aggaccgtca 60
 gtcttctctt tcccccaaa acccaaggac acctcatga tctcccggac ccctgaggtc 120
 acgtgcgtgg tgggtggacgt gagccacgaa gaccccaggg tccagttcaa ctggtacgtg 180
 gacggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca aagccacggg aggagcagtt caacagcacg 240
 ttccgtgtgg tcagcgtcct caccgttgtg caccaggact ggctgaacgg caaggagtac 300
 aagtgcaagg tctccaacaa aggctccca gccccatcg agaaaaccat ctccaaaacc 360
 aaagggcagc cccgagaacc acaggtgtac acctgcccc catcccggga ggagatgacc 420
 aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggtc aaaggcttct accccagcga catcgccgtg 480
 gagtgggaga gcaatgggca gccggagAAC aactacaaga ccacacctcc catgctggac 540
 tccgacggct ccttcttctt ctacagcaag ctcaccgtgg acaagagcag gtggcagcag 600
 gggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat gaggctctgc acaaccacta cacgcagaag 660
 agcctctccc tgtctccggg taaa 684

<210> 69

<211> 837

ES 2 687 299 T3

<212> ADN

<213> *Homo sapiens*

<400> 69

gagctcaaaa ccccaacttg tgacacaact cacacatgcc cacggtgccc agagcccaaa	60
tcttgtgaca cacctcccc gtgcccacgg tgcccagagc ccaaattctg tgacacacct	120
ccccgtgcc cacggtgccc agagcccaaa tcttgtgaca cacctcccc atgcccacgg	180
tgcccagcac ctgaactcct gggaggaccg tcagtcttcc tcttcccccc aaaacccaag	240
gataccctta tgatttcccg gaccctgag gtcacgtgcg tggtggtgga cgtgagccac	300
gaagacccc aggtccagtt caagtgttac gtggacggcg tggaggtgca taatgccaag	360
acaagccgc gggaggagca gttcaacagc acgttccgtg tggtcagcgt cctcacgcgc	420
ctgcaccagg actggctgaa cggcaaggag tacaagtgca aggtctcaa caaagccctc	480
ccagccccca tcgagaaaac catctccaaa accaaaggac agccccgaga accacaggtg	540
tacaccctgc ccccatcccg ggaggagatg accaagaacc aggtcagcct gacctgcctg	600
gtcaaaggct tctaccccag cgacatcgcc gtggagtggg agagcagcgg gcagccggag	660
aacaactaca acaccacgcc tcccatgctg gactccgacg gctccttctt cctctacagc	720
aagctcaccg tggacaagag caggtggcag caggggaaca tcttctcatg ctccgtgatg	780
catgaggctc tgcacaaccg cttcacgcag aagagcctct ccctgtctcc gggtaaa	837

5

<210> 70

<211> 687

<212> ADN

<213> *Homo sapiens*

10 <400> 70

ES 2 687 299 T3

gagtccaaat atggtccccc atgcccataca tgcccagcac ctgagttcct ggggggacca 60
 tcagtcttcc tgttcccccc aaaacccaag gacactctca tgatctcccg gaccctgag 120
 gtcacgtgcg tgggtggtgga cgtgagccag gaagaccccc aggtccagtt caactggtac 180
 gtggatggcg tggaggtgca taatgccaag acaaagccgc gggaggagca gttcaacagc 240
 acgtaccgtg tggtcagcgt cctcaccgtc ctgcaccagg actggctgaa cggcaaggag 300
 tacaagtgca aggtctccaa caaaggcctc ccgtcctcca tcgagaaaac catctccaaa 360
 gccaaagggc agccccgaga gccacaggtg tacaccctgc ccccatccca ggaggagatg 420
 accaagaacc aggtcagcct gacctgcctg gtcaaaggct tctaccccag cgacatcgcc 480
 gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacgcc tcccgtgctg 540
 gactccgacg gctccttctt cctctacagc aggctaaccg tggacaagag caggtggcag 600
 gaggggaatg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacacag 660
 aagagcctct ccctgtctct gggtaaa 687

<210> 71

<211> 25

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial: péptido sintético"

<400> 71

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
 1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 20 25

10

<210> 72

<211> 5

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15 <220>

<221> fuente

<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial: péptido sintético"

<400> 72

Gly Gly Gly Gly Ser
1 5

REIVINDICACIONES

1. Proteína biespecífica, que comprende:
 - 5 (a) un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene la siguiente fórmula: A-L1-P-L2-P, en la que A es una cadena pesada de inmunoglobulina de un anticuerpo de IgG, L1 es un primer ligador peptídico que está ausente o tiene de 3 a 40 aminoácidos de longitud, P es un péptido de unión a BAFF que tiene de 10 a 40 aminoácidos de longitud, y L2 es un segundo ligador peptídico que está ausente o tiene de 5 a 50 aminoácidos de longitud, y en la que la cadena pesada de inmunoglobulina de (a) y la cadena ligera de inmunoglobulina de (b) forman un anticuerpo de IgG, que comprende dos moléculas del polipéptido de (a) y dos moléculas de la cadena ligera de (b), que puede unirse a B7RP1; y
 - 10 (b) una cadena ligera de inmunoglobulina de un anticuerpo de IgG,
 - en la que la cadena pesada de inmunoglobulina de (a) y la cadena ligera de inmunoglobulina de (b) forman un anticuerpo de IgG que se une a B7RP1, en la que la proteína comprende dos moléculas del polipéptido de (a) y dos moléculas de la cadena ligera de (b),
 - en la que la proteína inhibe la proliferación mediada por BAFF de células B humanas, y
 - 15 en la que la proteína inhibe la proliferación mediada por B7RP1 de células T humanas.
2. Proteína biespecífica según la reivindicación 1, en la que a la cadena pesada de inmunoglobulina le falta una lisina en su extremo C-terminal justo aguas arriba de L1.
3. Proteína biespecífica según la reivindicación 1 ó 2, en la que el anticuerpo de IgG es un anticuerpo de IgG1 anti-B7RP1 humano o humanizado.
- 20 4. Proteína biespecífica según la reivindicación 1 ó 2, en la que el anticuerpo anti-B7RP1 es un anticuerpo de IgG2 humano o humanizado, o un anticuerpo de IgG4 humano o humanizado.
5. Proteína biespecífica según una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en la que P tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 (LPGCKWDLLIKQWVCDPL).
- 25 6. Proteína biespecífica según una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en la que L1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 40 (GGGGG).
7. Proteína biespecífica según una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en la que L2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5, preferiblemente en la que L2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6 o SEQ ID NO: 7.
- 30 8. Proteína biespecífica según una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, que comprende una CDR1 de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8 (RASQGISNWLA), una CDR2 de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9 (AASSLQS), una CDR3 de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10 (QQYDSYPRT), una CDR1 de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11 (SYWMS), una CDR2 de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 12 (YIKQDGNEKYVDSVKG), y una CDR3 de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 13 (EGILWFGDLPTF).
- 35 9. Proteína biespecífica según una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, que comprende una región variable de cadena ligera de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 14.
- 40 10. Proteína biespecífica según una cualquiera de las reivindicaciones 1-9, que comprende una región variable de cadena pesada de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 15.
11. Proteína biespecífica según una cualquiera de las reivindicaciones 5-10, en la que la cadena ligera de inmunoglobulina de (b) comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 19.
12. Proteína biespecífica según una cualquiera de las reivindicaciones 5-11, en la que el polipéptido de (a) comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 17 ó 18.
- 45 13. Proteína biespecífica según la reivindicación 1, en la que:
 - (a) un polipéptido (a) según la reivindicación 1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 17 o SEQ ID NO: 18, y
 - (b) el polipéptido (b) según la reivindicación 1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 19.
14. Proteína biespecífica según la reivindicación 13, en la que el polipéptido de (a) comprende la secuencia de

- aminoácidos de SEQ ID NO: 17.
15. Proteína biespecífica según la reivindicación 13, en la que el polipéptido de (b) comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 18.
- 5 16. Composición farmacéutica que comprende la proteína biespecífica según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15 y un excipiente fisiológicamente aceptable.
17. Ácido nucleico que codifica la proteína biespecífica según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15.
18. Vector que comprende el ácido nucleico según la reivindicación 17.
19. Célula huésped que contiene el ácido nucleico según la reivindicación 17 y/o el vector según la reivindicación 18.
- 10 20. Método para producir una proteína biespecífica que comprende cultivar la célula huésped según la reivindicación 19 en condiciones tales que se expresa el ácido nucleico y recuperar la proteína a partir de la masa celular o del medio de cultivo.
21. Método según la reivindicación 20, en el que la célula huésped es una célula de mamífero, o una célula de *Escherichia coli*, preferiblemente en el que la célula de mamífero es una célula CHO.
- 15 22. Proteína biespecífica según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15 o composición farmacéutica según la reivindicación 16 para su uso en el tratamiento de lupus eritematoso sistémico.
23. Proteína biespecífica, proteína o composición farmacéutica para su uso según la reivindicación 22, en la que se administra otro agente terapéutico al paciente antes de, después de o simultáneamente con la proteína biespecífica, y
- 20 en la que el otro agente terapéutico es un corticosteroide, un agente antipalúdico, ácido retinoico, un AINE, ciclofosfamida, dehidroepiandrosterona, micofenolato de mofetilo, azatioprina, clorambucilo, metotrexato, tacrolimus, dapsona, talidomida, leflunomida o ciclosporina, preferiblemente en la que el otro agente terapéutico es micofenolato de mofetilo, un corticosteroide, un agente antipalúdico, metotrexato o azatioprina.
- 25 24. Proteína biespecífica según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15 o composición farmacéutica según la reivindicación 16 para su uso en el tratamiento de una enfermedad seleccionada del grupo que consiste en: vasculitis positiva para ANCA, artritis reumatoide (RA), enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, enfermedad celiaca, pénfigo, penfigoide, lupus eritematoso cutáneo subagudo (SCLE), esclerosis múltiple, polineuropatía desmielinizante inflamatoria crónica (CIDP), miastenia grave, síndrome de Goodpasture, glomerulonefritis, anemia hemolítica autoinmunitaria (AIHA), púrpura trombocitopénica idiopática (ITP), hepatitis activa crónica, cirrosis biliar primaria, síndrome de Sjogren, esclerosis sistémica, tiroiditis de Hashimoto, enfermedad de Graves, enfermedad de Addison y neoplasia endocrina múltiple (MEN).
- 30 25. Proteína biespecífica según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15 para su uso como medicamento.
- 35 26. Composición farmacéutica que comprende la proteína biespecífica según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15 para su uso en el tratamiento de lupus eritematoso sistémico o nefritis lúpica.

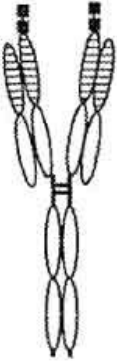
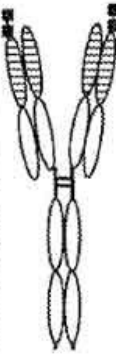
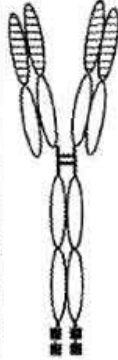

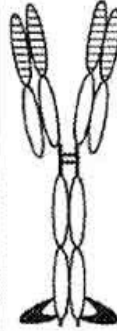
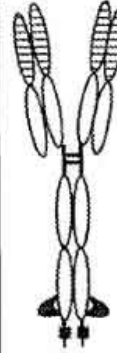
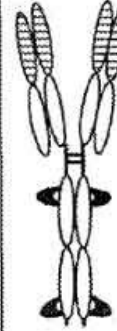
Nombre de constructo	P71617	P71618	P71619	P71620	P71621	P71622	P71523
Característica de constructo	Fusión en N de HC	Fusión en N de LC	Fusión en N de 1K	Fusión en C de G4S	2 x bucle de Fc	1 x bucle de Fc 1 x fusión en C	1 x CH2 1 x CH3
Diseño de constructo							

Figura 1

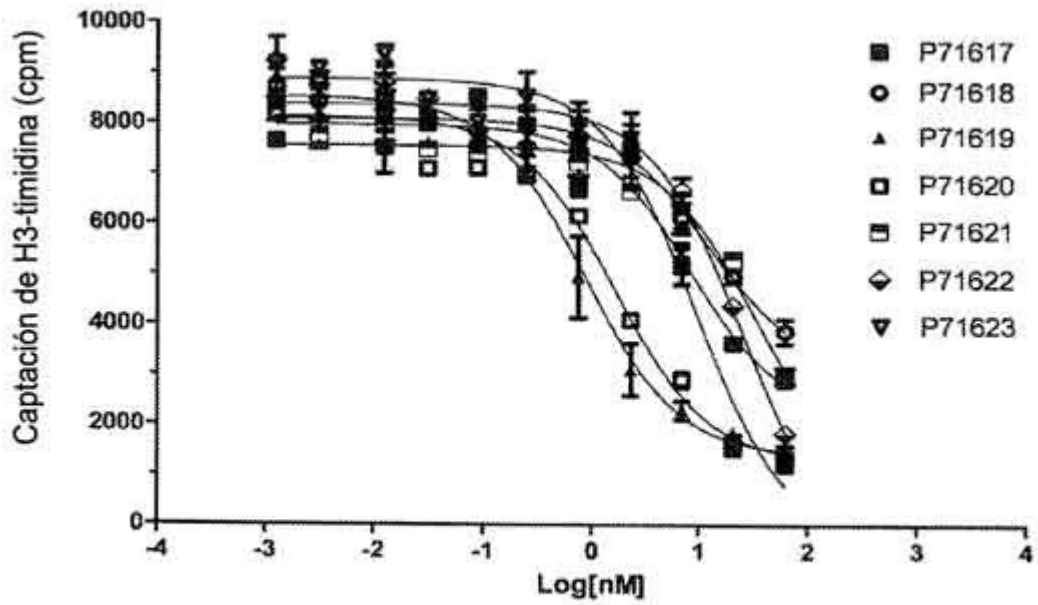


Figura 2A

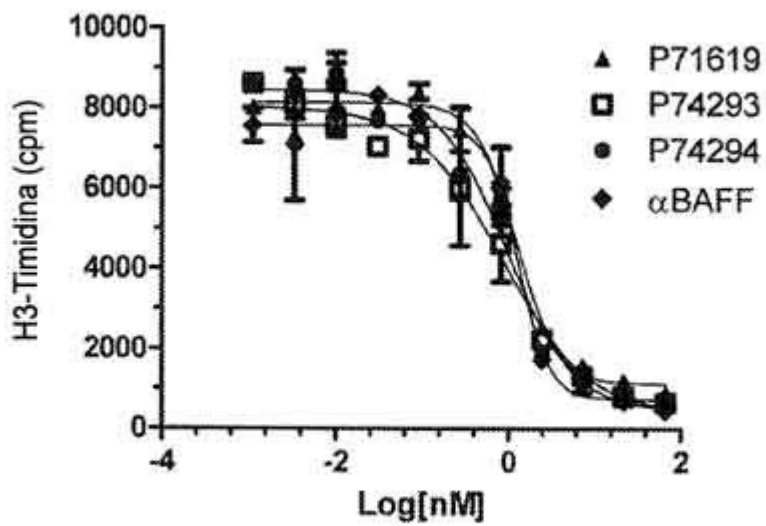


Figura 2B

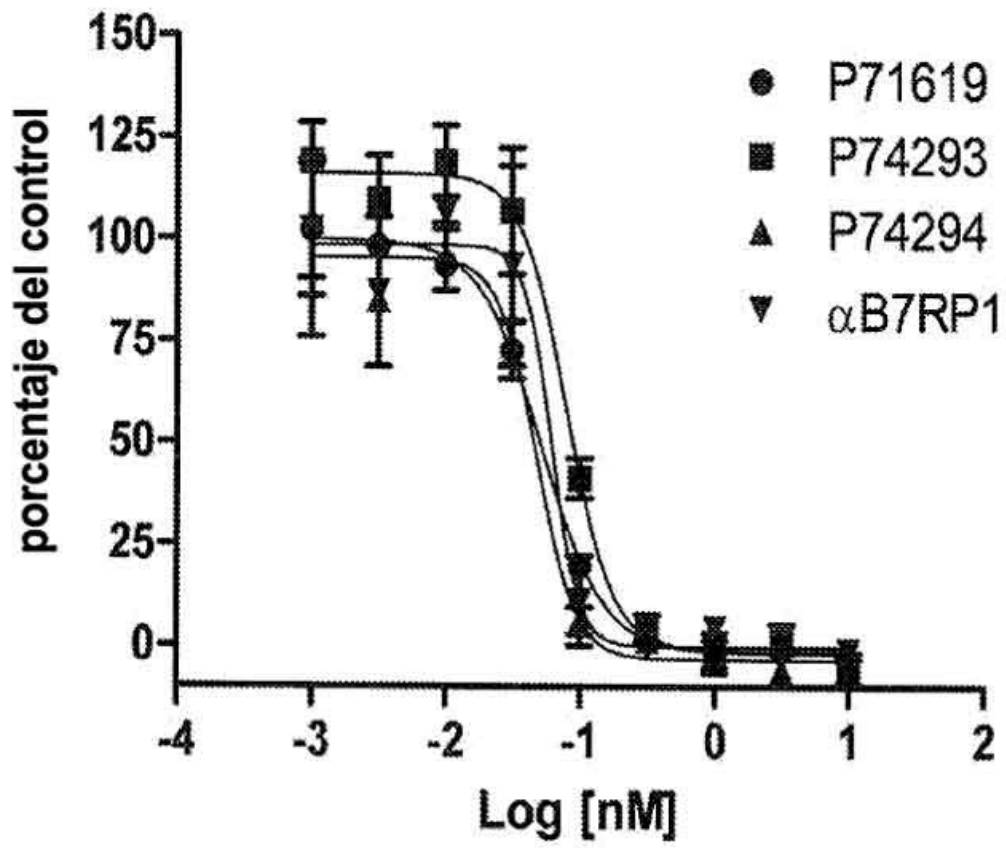


Figura 3

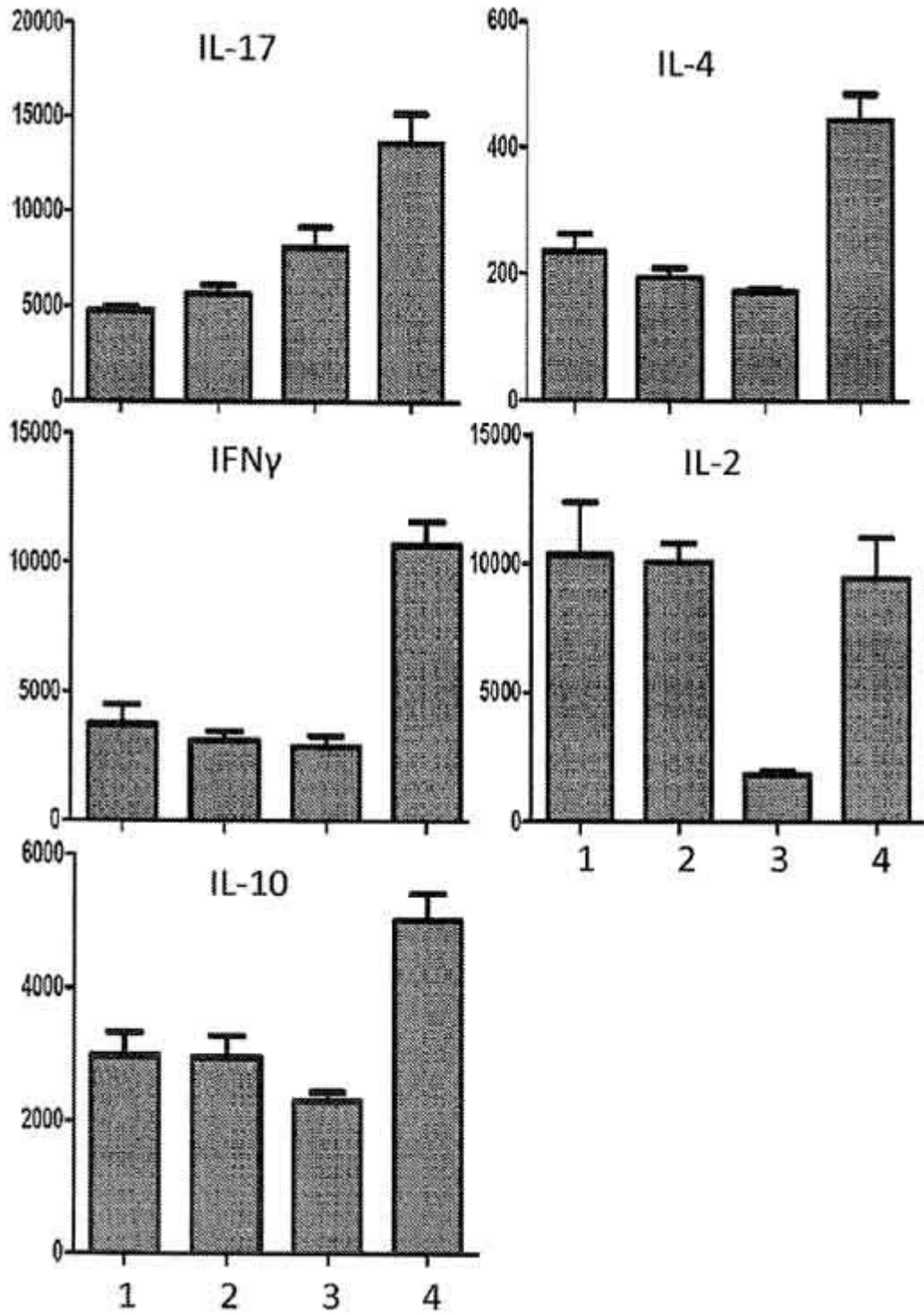


Figura 4

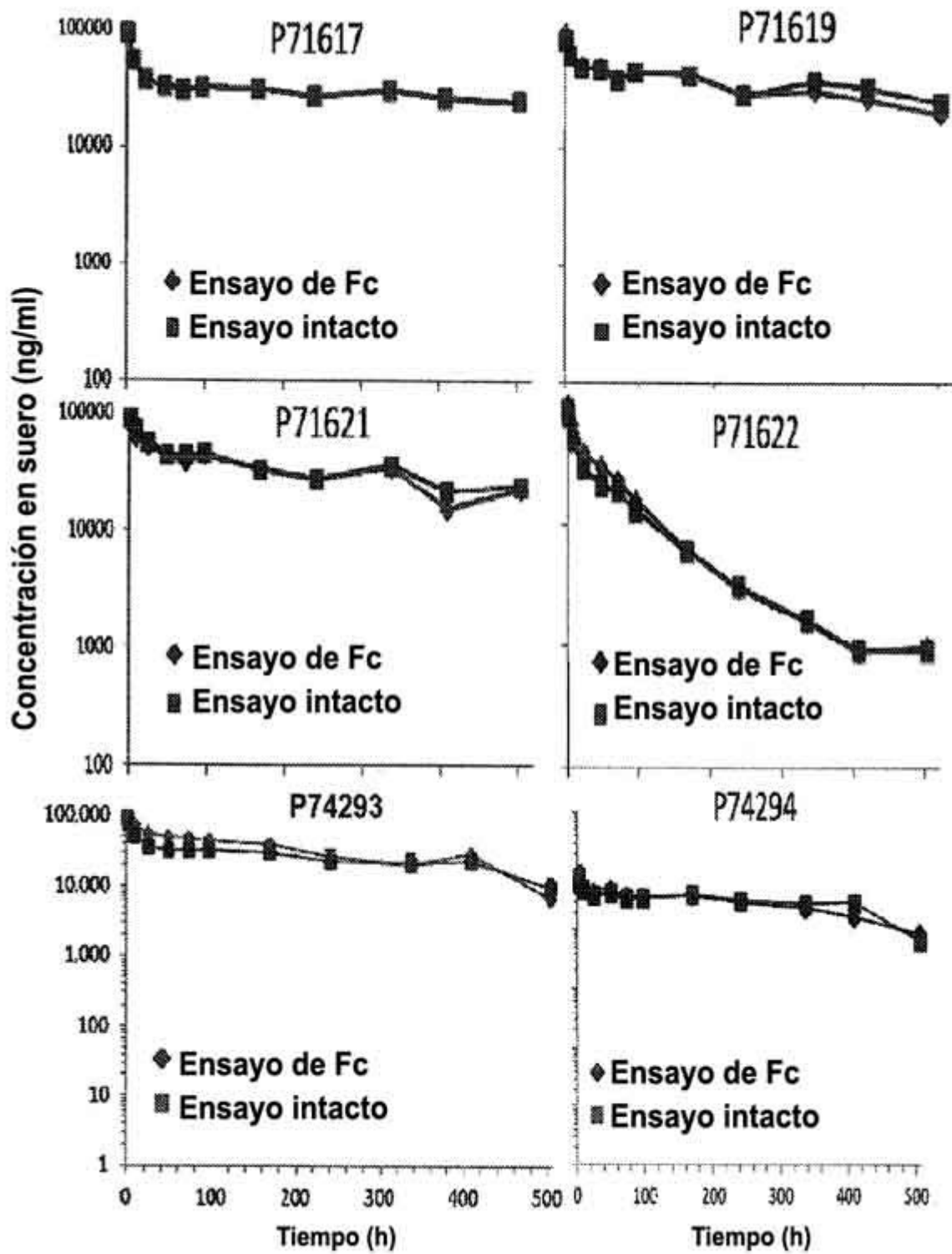


Figura 5

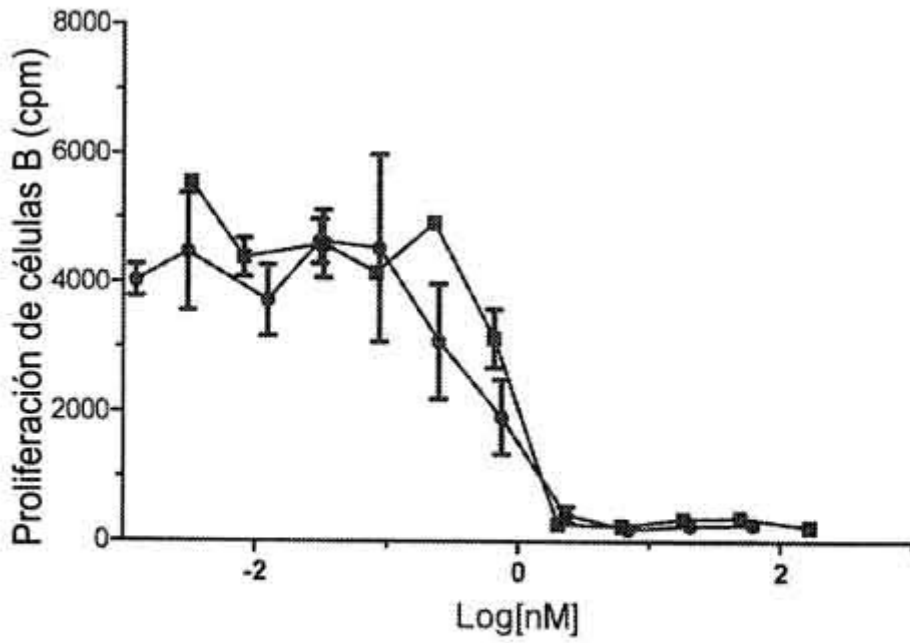


Figura 6A

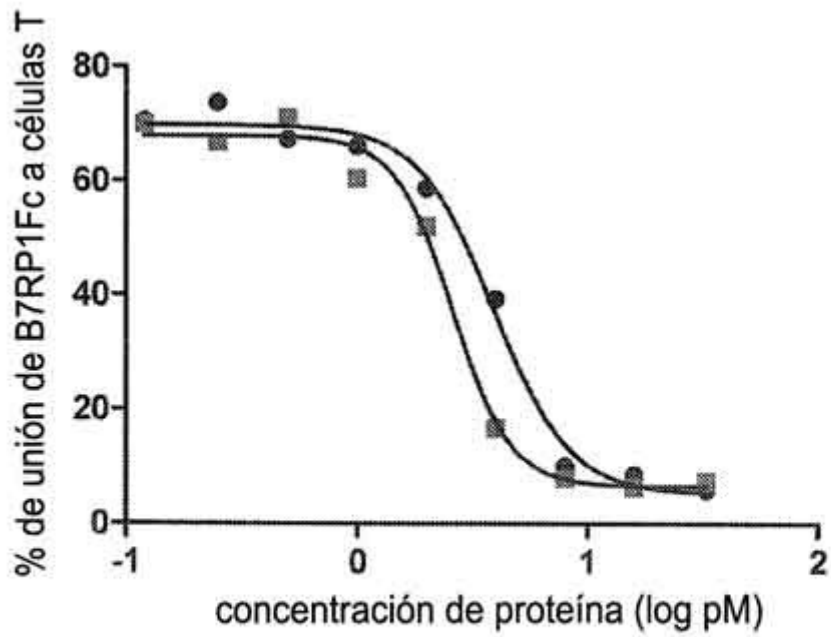


Figura 6B

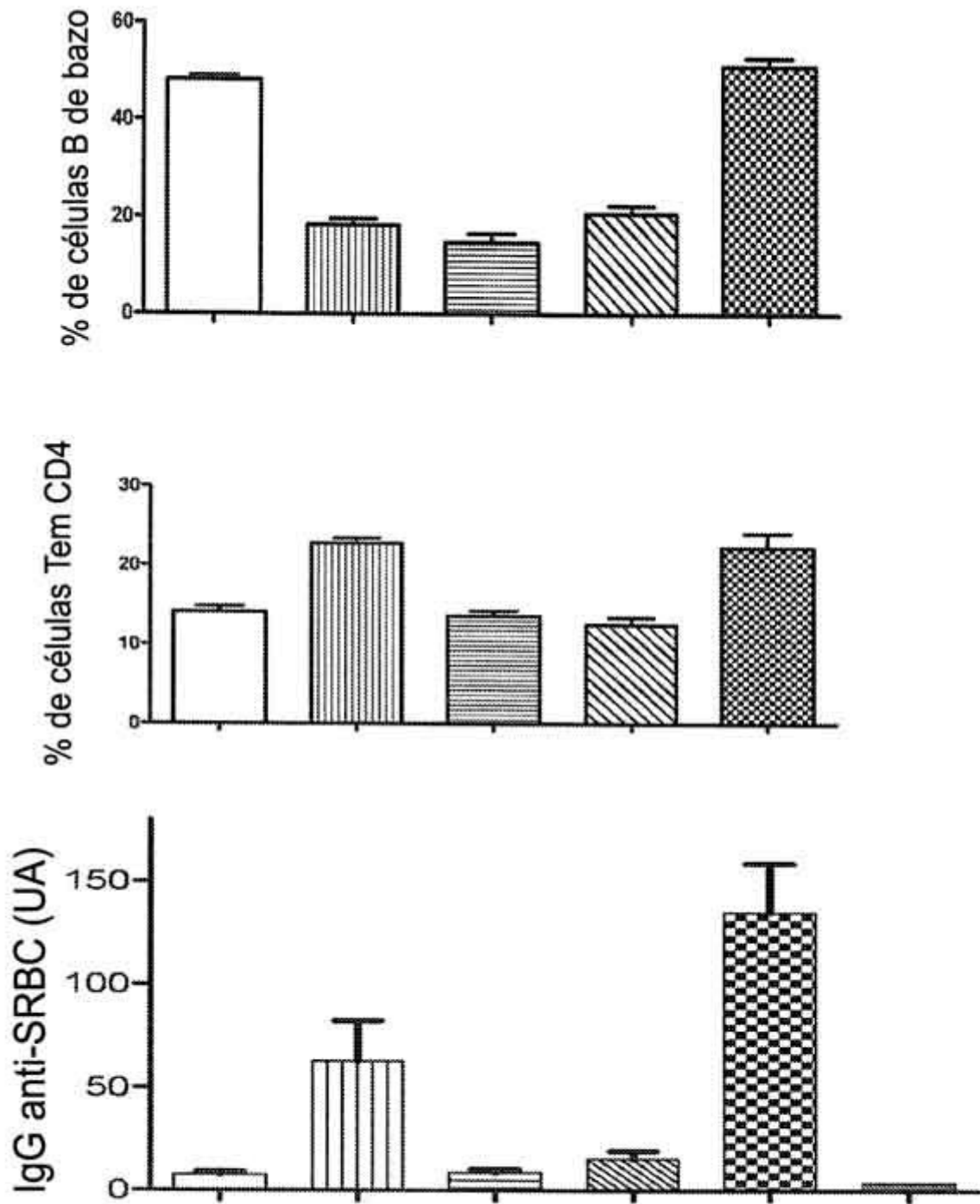


Figura 7

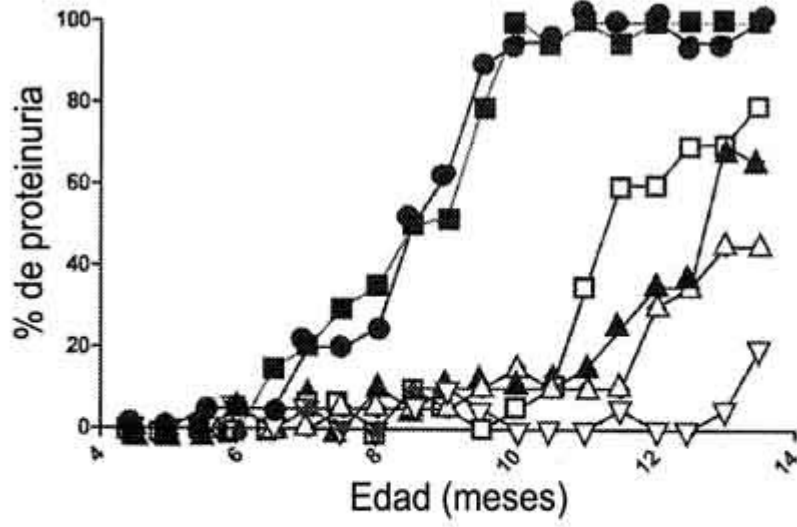


Figura 8A

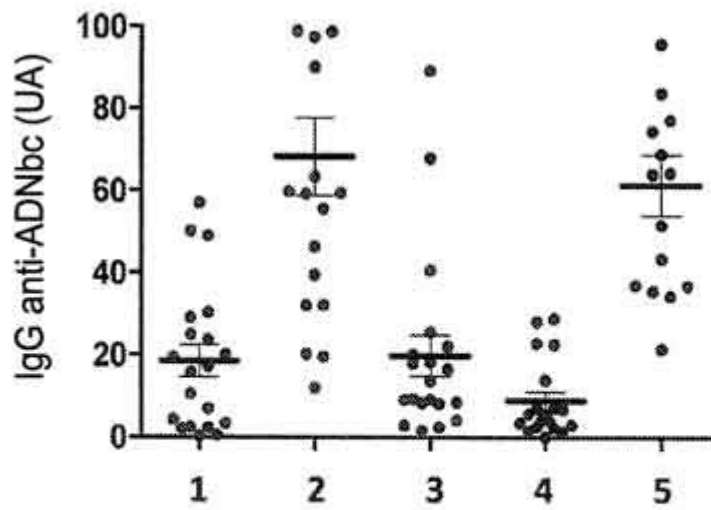


Figura 8B

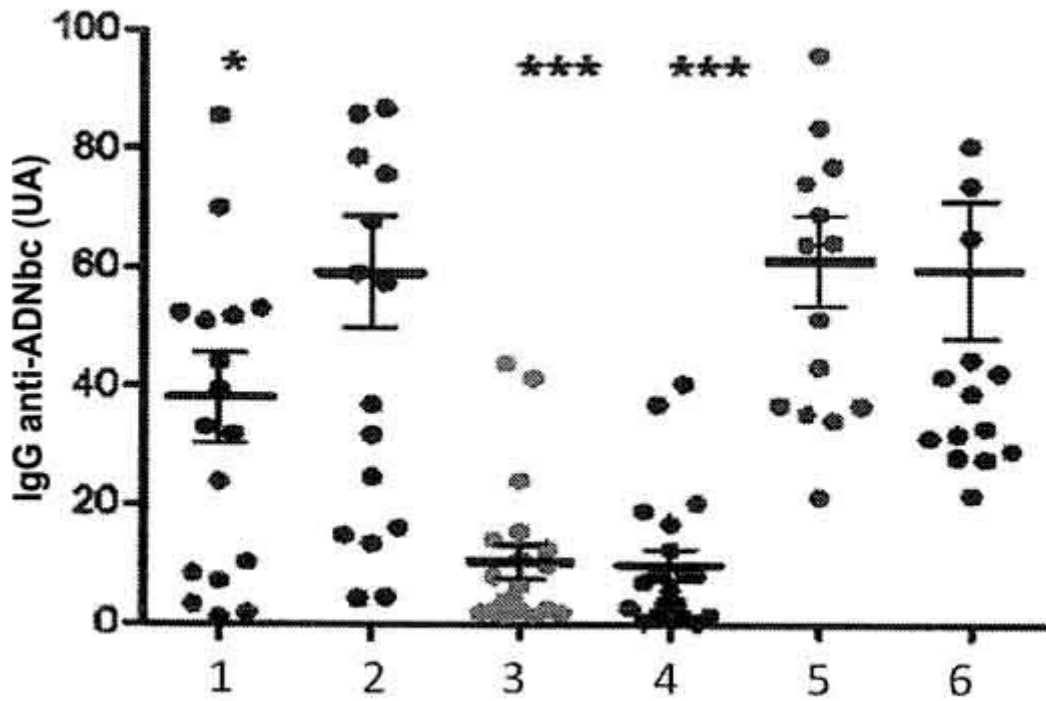


Figura 9A

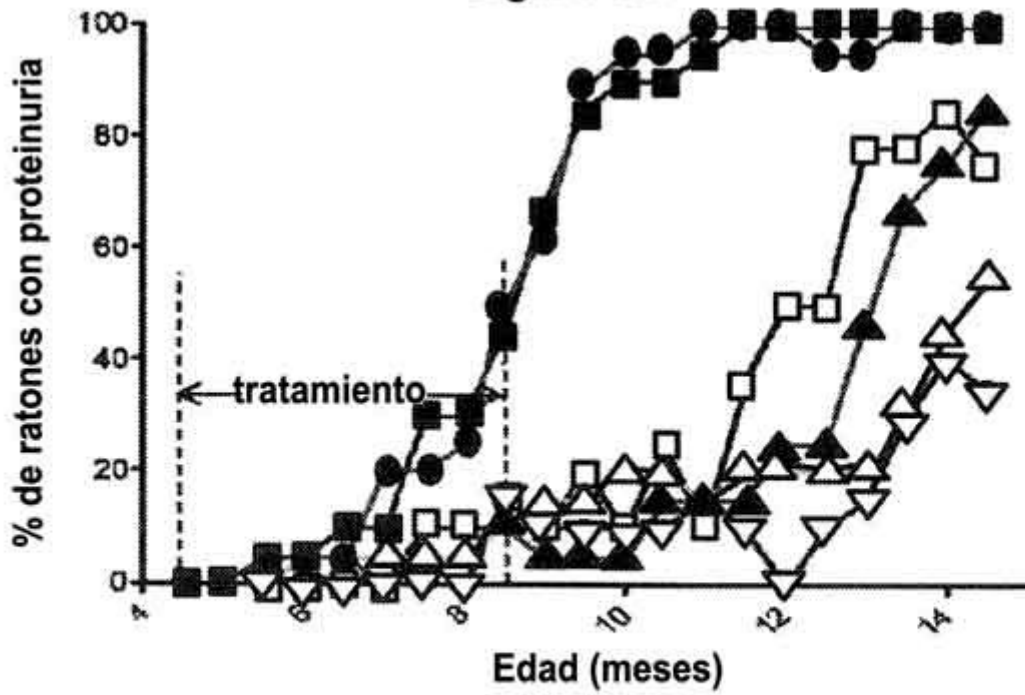


Figura 9B

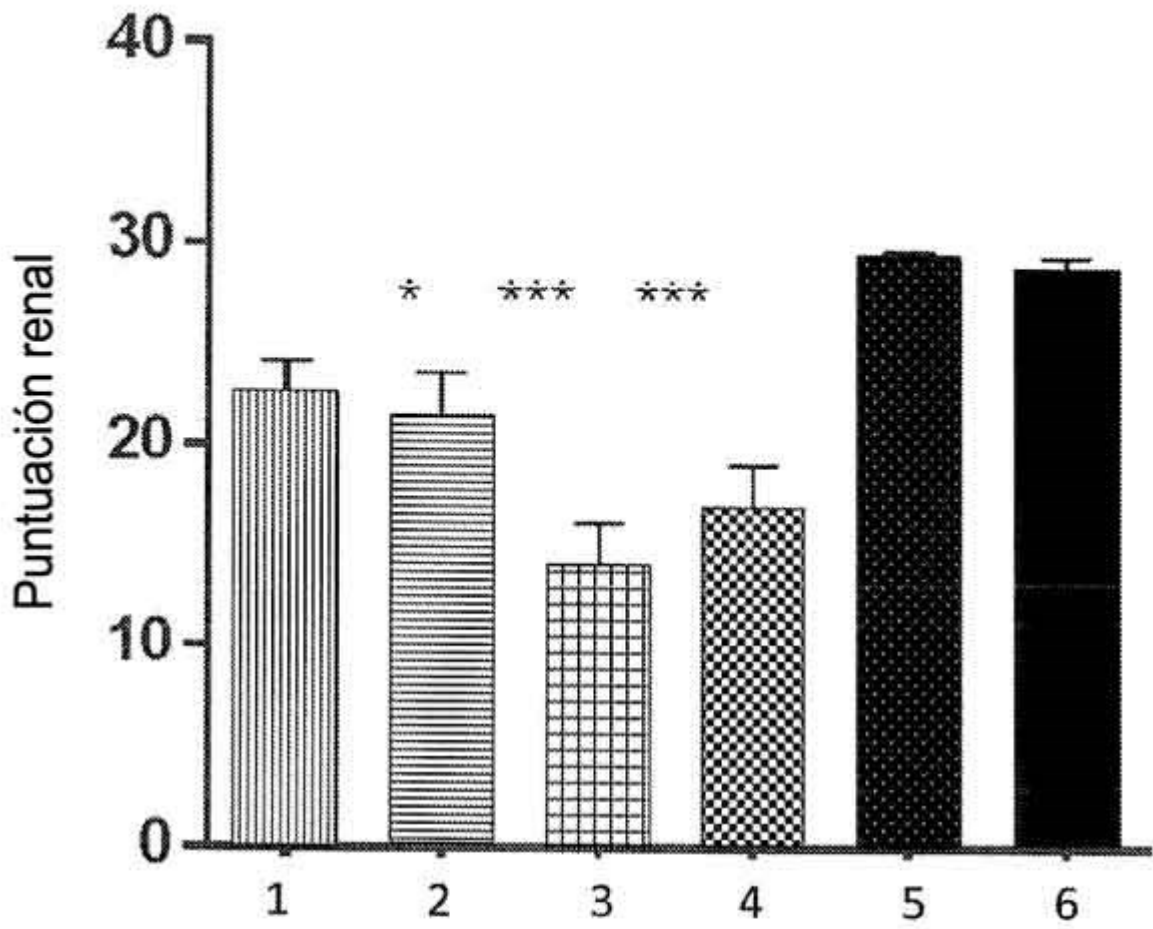


Figura 10

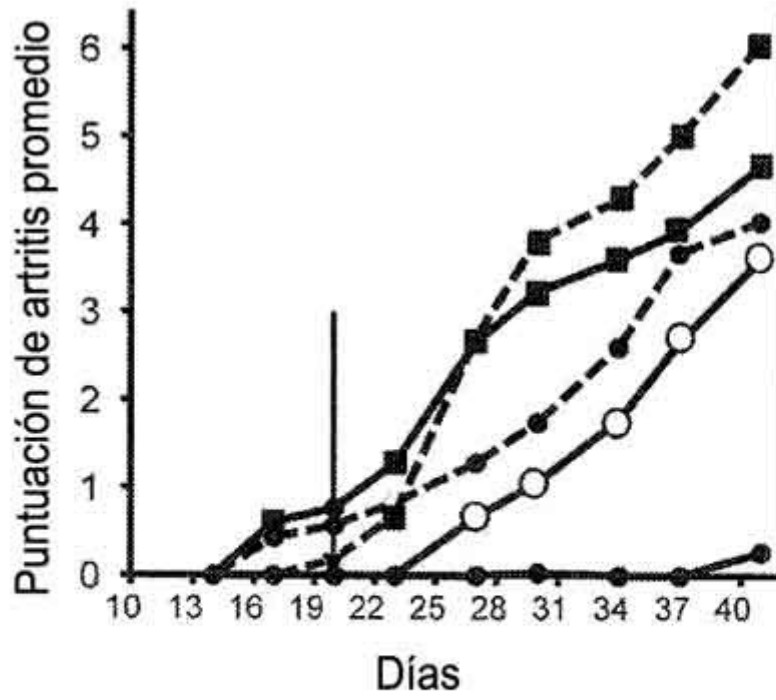
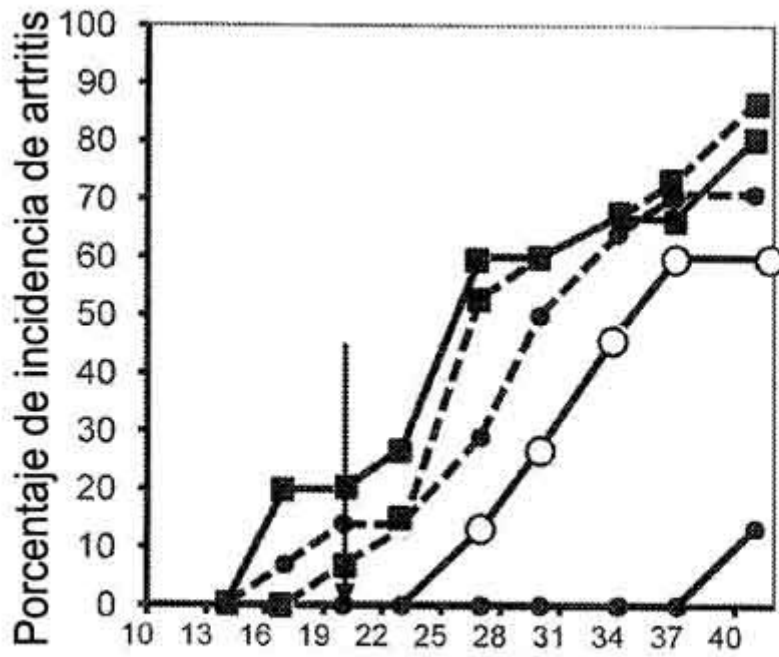


Figura 11