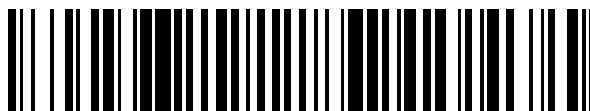


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 701 093**

51 Int. Cl.:

C07K 16/28 (2006.01)

A61K 39/395 (2006.01)

C12Q 1/68 (2008.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **20.08.2013 PCT/US2013/055747**

87 Fecha y número de publicación internacional: **27.02.2014 WO14031610**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.08.2013 E 13759908 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.09.2018 EP 2888281**

54 Título: **Métodos para tratar o prevenir el asma administrando un antagonista de IL-4R**

30 Prioridad:

21.08.2012 US 201261691625 P
29.01.2013 US 201361758097 P
06.02.2013 US 201361761279 P
14.03.2013 US 201361783796 P
27.03.2013 US 201361805797 P
16.07.2013 FR 1356994

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
20.02.2019

73 Titular/es:

SANOFI BIOTECHNOLOGY (50.0%)
54 rue La Boétie
75008 Paris, FR y
REGENERON PHARMACEUTICALS, INC. (50.0%)

72 Inventor/es:

ARDELEANU, MARIUS;
GANDHI, NAMITA;
GRAHAM, NEIL;
KIRKESSELI, STEPHANE, C.;
KUNDU, SUDEEP;
RADIN, ALLEN;
ROCKLIN, ROSS, E.;
WEINSTEIN, STEVEN;
DAVIDSON HAMILTON, JENNIFER y
MING, JEFFREY

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 701 093 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Métodos para tratar o prevenir el asma administrando un antagonista de IL-4R.

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere al tratamiento y/o prevención del asma y condiciones relacionadas. Más específicamente, la invención se refiere a la administración de un antagonista del receptor de interleuquina-4 (IL-4R) para tratar o prevenir el asma en un paciente que lo necesita.

Antecedentes

10 El asma es una enfermedad inflamatoria crónica de las vías aéreas caracterizada por la hipersensibilidad de las vías aéreas, broncoconstricción aguda y crónica, edema de las vías aéreas, y obstrucción por mucosidad. Se cree que el componente de inflamación del asma implica muchos tipos de células, que incluyen mastocitos, eosinófilos, linfocitos T, neutrófilos y células epiteliales, y sus productos biológicos. Los pacientes con asma muy a menudo presentan síntomas de sibilancia, dificultad para respirar, tos y opresión en el pecho. Para la mayoría de pacientes con asma, un régimen de terapia de control y terapia con broncodilatadores proporciona un adecuado control a largo plazo. Los corticosteroides inhalados (ICS) se consideran el "patrón oro" en el control de los síntomas del asma, y los beta2-agonistas inhalados son los broncodilatadores más efectivos disponibles actualmente. Los estudios han mostrado que la terapia de combinación de un ICS con un beta2-agonista de acción prolongada (LABA) inhalado proporciona mejor control del asma que altas dosis de ICS solo. Por consiguiente, la terapia de combinación ha sido el tratamiento recomendado para los sujetos que no están controlados solo con bajas dosis de ICS.

20 Sin embargo, se estima que del 5% al 10% de la población con asma tiene enfermedad sintomática a pesar del tratamiento máximo recomendado con combinaciones de fármacos anti-inflamatorios y broncodilatadores. Además, esta población con asma severa representa hasta el 50% del coste total en salud en las admisiones hospitalarias, el uso de servicios de emergencias y visitas médicas no programadas. Hay una necesidad no satisfecha de una nueva terapia en esta población con asma severa ya que muchos de estos pacientes son poco receptivos al ICS debido a un número de mecanismos celulares y moleculares. Además, los efectos adversos a largo plazo de los corticosteroides sistémicos e inhalados en el metabolismo óseo, la función adrenal, y el crecimiento en los niños llevan a intentar minimizar la cantidad de uso de corticosteroides. Aunque una gran parte de los pacientes con asma se manejan razonablemente bien con los actuales tratamientos, los pacientes con asma refractaria a los corticosteroides severa tienen pocas opciones de tratamiento terapéutico que puedan controlar de forma adecuada la enfermedad. La consecuencia de la falta de respuesta a la terapia o falta de cumplimiento de la terapia es la pérdida del control del asma y en última instancia la exacerbación asmática.

25 Una de las razones para la pobre respuesta a la medicación en algunos pacientes con asma severa puede ser la heterogeneidad de la enfermedad. Está aumentando el interés por entender estos distintos fenotipos porque la terapia dirigida es más probable que tenga éxito en pacientes con características patobiológicas subyacentes similares. Las estrategias terapéuticas recientes en asma se han centrado en intentar controlar la respuesta del linfocito T colaborador 2. La sobre-regulación de interleuquina-4 (IL-4) e interleuquina-13 (IL-13) se ha implicado como un componente inflamatorio importante de la progresión de la enfermedad del asma.

30 J. Corren et al. ("A randomized, Controlled, Phase 2 Study of AMG 317, an IL-4R Antagonist, in Patients with Asthma", American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine, vol. 181, núm. 8, 15 de abril de 2010 (15-04-2010), páginas 788-796) enseña un estudio en fase II del anticuerpo monoclonal humano a IL4Ralfa AMG 317 en el tratamiento del asma en el que se notó una reducción del número de y tiempo a las exacerbaciones en pacientes que recibían AMG 317 a 150 mg y 300 mg de forma subcutánea una vez a la semana durante 12 semanas.

Por consiguiente, existe una necesidad en la técnica de nuevas terapias dirigidas para el tratamiento y/o prevención del asma.

Breve resumen de la invención

45 Según un aspecto de la presente invención, se proporcionan composiciones farmacéuticas para usar en la reducción de la incidencia de exacerbaciones asmáticas en un sujeto que lo necesita. En un aspecto relacionado, las composiciones farmacéuticas se proporcionan para usar en la mejora de uno o más parámetro(s) asociado(s) con el asma en un sujeto que lo necesita. En aún otro aspecto de la presente invención, se proporcionan composiciones farmacéuticas para tratar el asma, p.ej., asma eosinófila de moderada a severa, en un sujeto que lo necesita.

50 Las composiciones farmacéuticas para los usos caracterizados en la invención comprenden una cantidad terapéuticamente efectiva de un antagonista del receptor de interleuquina-4 (IL-4R).

55 El antagonista de IL-4R es un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno del mismo que se une específicamente a un IL-4R, y comprende las secuencias CDR (región determinante de la complementariedad) de la cadena pesada y la cadena ligera procedentes de la región variable de la cadena pesada (HCVR) y la región variable de la cadena ligera (LCVR) de las SEQ ID NOs: 162 y 164, respectivamente. Los anticuerpos anti-IL-4R

ejemplares que pueden usarse en el contexto de la presente invención se describen en otra parte en la presente memoria, incluyendo el Ejemplo de trabajo 1.

En una realización, se proporciona una composición farmacéutica para usar en la reducción de la incidencia de una o más exacerbaciones asmáticas en un sujeto que padece asma persistente. La exacerbación asmática puede ser una o más de lo siguiente: (a) una reducción del 30% o más desde el punto de referencia en el flujo espiratorio máximo (PEF) por la mañana en dos días consecutivos; (b) seis o más dosis aliviadoras adicionales de albuterol o levalbuterol en un periodo de 24 horas (en comparación con el punto de referencia) en dos días consecutivos; y (c) un deterioro del asma que necesita: (i) tratamiento de esteroides sistémico (oral y/o parenteral), o (ii) un aumento en los corticosteroides inhalados de al menos 4 veces la última dosis recibida antes de la interrupción u hospitalización.

En otra realización, se proporciona una composición farmacéutica para usar en la mejora de uno o más parámetros asociados con el asma en un sujeto que padece asma persistente, en la que la mejora en un parámetro asociado con el asma se define como uno de los siguientes: un aumento desde el punto de referencia de FEV1; un aumento desde el punto de referencia de AM PEF; un aumento desde el punto de referencia de PM PEF; una disminución desde el punto de referencia del uso de albuterol/levalbuterol; una disminución desde el punto de referencia de los despertares nocturnos; y/o una disminución desde el punto de referencia de la puntuación de SNOT-22. Ejemplos de los parámetros asociados con el asma incluyen: (a) volumen espiratorio forzado en 1 segundo (FEV1); (b) caudal espiratorio máximo (PEF), que incluye PEF de la mañana (AM PEF) y PEF de la tarde (PM PEF); (c) uso de un broncodilatador inhalado, tal como albuterol o levalbuterol; (d) puntuación en el Cuestionario de Control del Asma de cinco puntos (ACQ5); (e) despertares nocturnos; y (f) puntuación de la Prueba de Resultado Seno-nasal de 22 puntos (SNOT-22). En esta realización, la mejora en un parámetro asociado con el asma se selecciona de: un aumento de al menos 0,10 L desde el punto de referencia de FEV1; un aumento de al menos 10,0 L/min desde el punto de referencia de AM PEF; un aumento de al menos 10,0 L/min desde el punto de referencia de PM PEF; una disminución en el uso de albuterol/levalbuterol de al menos 1 dosis por día desde el punto de referencia; una disminución de al menos 0,5 puntos desde el punto de referencia en la puntuación de ACQ5; una disminución de al menos 0,2 veces por noche desde el punto de referencia de los despertares nocturnos; y una disminución de al menos 5 puntos desde el punto de referencia en la puntuación de SNOT-22.

La invención también proporciona composiciones farmacéuticas para usar en la reducción de la incidencia de las exacerbaciones asmáticas, o la mejora de uno o más parámetro(s) asociado(s) con el asma en un sujeto que padece asma persistente, en el que el uso comprende administrar de forma secuencial a un sujeto que lo necesita una única dosis inicial de una composición farmacéutica que comprende un antagonista de IL-4R (un anticuerpo anti-IL-4R o fragmento de unión al antígeno del mismo), seguido por una o más dosis secundarias de la composición farmacéutica que comprende el antagonista de IL-4R. La composición farmacéutica que comprende el antagonista de IL-4R puede administrarse de forma subcutánea, intranasal o intravenosa al sujeto que lo necesita.

Según ciertas realizaciones, la invención proporciona composiciones farmacéuticas para usar en la reducción de la incidencia de las exacerbaciones asmáticas, o mejora de uno o más parámetro(s) asociado(s) al asma en un sujeto que lo necesita, en el que el uso comprende administrar al sujeto aproximadamente 75 a aproximadamente 300 mg de la composición farmacéutica que comprende un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo que se une específicamente a IL-4R. Según este aspecto, la composición farmacéutica puede administrarse al sujeto a una frecuencia de dosificación de, p.ej., una vez a la semana.

La presente descripción incluye además métodos para tratar el asma (p.ej., asma eosinófila, asma eosinófila de moderada a severa, etc.) seleccionando un sujeto que muestra uno o más síntomas o indicios de asma, y administrando al paciente una composición farmacéutica que comprende un antagonista de IL-4R (p.ej., un anticuerpo anti-IL-4R o fragmento de unión al antígeno del mismo), en el que el sujeto muestra uno o más de los siguientes síntomas o indicios de asma: (1) el sujeto se ha tratado con una dosis estable de, o bien terapia de combinación de fluticasona/salmeterol (250/50 µg dos veces al día o 500/50 µg dos veces al día), o bien terapia de combinación de budesonida/formoterol (160/9 µg dos veces al día o 320/9 µg dos veces al día) durante al menos 3 meses antes del examen; (2) el sujeto tiene eosinófilos en sangre más que o igual a 300 células/µL; (3) el sujeto tiene eosinófilos en el esputo más que o igual a 3%; (4) el sujeto tiene niveles elevados de IgE, quimiocina de regulación por activación y timo (TARC), eotaxina-3, antígeno carcinoembrionario (CEA), YKL-40, o periostina; (5) el sujeto tiene un nivel elevado de óxido nítrico exhalado fraccionado (FeNO); y/o (6) el sujeto tiene una puntuación en el Cuestionario de Control del Asma (ACQ5) mayor que o igual a 1,0.

Las realizaciones caracterizadas en la descripción están dirigidas a composiciones farmacéuticas para el uso como se describe anteriormente, comprendiendo además dicho uso la administración de un segundo agente terapéutico en combinación con el antagonista de IL-4R. El segundo agente terapéutico puede administrarse a un sujeto que lo necesita antes, después o de forma simultánea con el antagonista de IL-4R. Los segundos agentes terapéuticos ejemplares incluyen, aunque no están limitados a, uno o más de los siguientes en combinación: inhibidores de IL-1, inhibidores de IL-5, inhibidores de IL-8, inhibidores de IgE, inhibidores del factor de necrosis tumoral (TNF), corticosteroides, beta2-agonistas de acción prolongada e inhibidores de leucotrieno.

En otro aspecto, la descripción se refiere a antagonistas de IL-4R para usar en la reducción o eliminación de la dependencia de un paciente con asma de la terapia de asma de base que comprende seleccionar un paciente que

tiene asma de moderada a severa que no está controlada o está parcialmente controlada con la terapia de asma de base; administrar al paciente una dosis definida de un antagonista de IL-4R a una frecuencia definida durante un periodo de tratamiento inicial mientras se mantiene la terapia de base del paciente durante el periodo de tratamiento inicial; y reducir gradualmente o eliminar la dosis de uno o más componentes de la terapia de base durante un periodo de tratamiento posterior mientras continúa la administración del antagonista de IL-4R al paciente con la frecuencia y dosis definida usada durante el periodo de tratamiento inicial. En esta realización, la terapia de base comprende un corticosteroide inhalado (ICS), un beta-agonista de acción prolongada (LABA), o una combinación de un ICS y un LABA. En algunas realizaciones, la terapia de base se reduce o se retira gradualmente durante un periodo de 2-8 semanas. En una realización, la terapia de base se reduce gradualmente durante un periodo de tratamiento posterior.

En aún otro aspecto, la descripción se refiere a los antagonistas de IL-4R para usar en el tratamiento de asma persistente de moderado a severo seleccionando un paciente con un elevado nivel de un biomarcador, tal como quimiocina regulada por activación y timo (TARC), IgE, eotaxina-3, periostina, antígeno carcinoembrionario (CEA) o YKL-40, o que tiene un nivel aumentado de óxido nítrico exhalado fraccionado (FeNO); y administrar al paciente una cantidad terapéuticamente efectiva del antagonista de IL-4R.

En otro aspecto, la presente descripción caracteriza un método para monitorizar la efectividad del tratamiento de asma de moderado a severo en un sujeto, tal como (a) determinando el nivel de expresión de un biomarcador, tal como uno o ambos de TARC o eotaxina-3, o el nivel total en suero de IgE en una muestra biológica obtenida a partir del sujeto antes del tratamiento con un antagonista de IL-4R; (b) determinando el nivel de expresión del biomarcador en una muestra biológica obtenida a partir del sujeto después del tratamiento con el antagonista de IL-4R; (c) comparando el nivel de expresión determinado en la etapa (a) con el nivel en la etapa (b), y (d) concluyendo que el tratamiento es efectivo cuando el nivel determinado en la etapa (b) es menor que el nivel determinado en la etapa (a), o concluyendo que el tratamiento no es efectivo cuando el nivel determinado en la etapa (b) es el mismo o mayor que el nivel determinado en la etapa (a).

En una realización, el biomarcador es FeNO, y si los niveles de FeNO disminuyen después de la administración del antagonista, entonces el tratamiento con el antagonista de IL-4R se determina que es efectivo.

El nivel de expresión del biomarcador puede determinarse, por ejemplo, 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas, 5 semanas, o más después de la administración del antagonista de IL-4R, y compararse con el nivel de expresión antes de la administración del antagonista. La dosis o el régimen de dosificación del antagonista de IL-4R (p.ej., un anticuerpo anti-IL4R) puede ajustarse después de la determinación. Por ejemplo, si la expresión del biomarcador no logra disminuir en 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas, 5 semanas o más después de la administración del antagonista, entonces el tratamiento con el antagonista puede pararse, o la dosis del antagonista puede aumentarse. Si la expresión del biomarcador disminuye después de la administración del antagonista, la dosis del antagonista puede mantenerse o disminuirse, para identificar una dosis mínima efectiva. En algunas realizaciones, el tratamiento se mantiene a la dosis mínima efectiva.

En otro aspecto, la presente descripción caracteriza un método para monitorizar la respuesta de un sujeto al tratamiento con un antagonista de IL-4R, en el que el sujeto tiene asma de moderada a severa, tal como obteniendo información respecto al nivel de expresión de un biomarcador, tal como uno o ambos de TARC o eotaxina-3, o el nivel total en suero de IgE en una muestra biológica del sujeto después de la administración del antagonista de IL-4R al sujeto, y proporcionando una indicación de que el tratamiento debería continuarse si el nivel de expresión del biomarcador ha disminuido en comparación con el nivel antes del tratamiento con el antagonista de IL-4R. En una realización el biomarcador es FeNO, y si se determina que los niveles de FeNO disminuyen después de la administración del anticuerpo, entonces se proporciona una indicación de continuar el tratamiento con el antagonista de IL-4R.

La descripción también incluye un antagonista de IL-4R como se describe en la presente memoria para usar en la fabricación de un medicamento para el tratamiento y/o prevención del asma (p.ej., asma eosinófila, asma eosinófila de moderada a severa, etc.) o para tratar cualquiera de las demás indicaciones o condiciones descritas en la presente memoria.

La descripción también incluye un antagonista de IL-4R como se describe en la presente memoria para usar en el tratamiento y/o prevención de asma (p.ej., asma eosinófila, asma eosinófila de moderada a severa, etc.) o para el tratamiento y/o prevención de cualquiera de las demás indicaciones o condiciones descritas en la presente memoria.

La descripción incluye una composición farmacéutica que comprende un antagonista de anticuerpo anti-IL4R o un fragmento de unión al antígeno del mismo para usar en el tratamiento y/o prevención del asma y condiciones relacionadas.

La descripción también incluye una composición farmacéutica que comprende un antagonista de anticuerpo anti-IL4R o un fragmento de unión al antígeno del mismo para usar en la reducción de la incidencia de una o más exacerbaciones asmáticas en un sujeto que lo necesita.

Además, la descripción incluye una composición farmacéutica que comprende un antagonista de anticuerpo anti-IL4R o un fragmento de unión al antígeno del mismo para usar en la mejora de uno o más parámetro(s) asociado(s) con el asma en un sujeto que lo necesita.

5 La descripción incluye una composición farmacéutica que comprende un antagonista de anticuerpo anti-IL4R o un fragmento de unión al antígeno del mismo para usar en el tratamiento de asma y condiciones relacionadas en un paciente que tiene un nivel elevado de un biomarcador seleccionado del grupo que consiste en quimiocina regulada por activación y el timo (TARC), IgE, eotaxina-3, periostina, antígeno carcinoembrionario (CEA), YKL-40, y óxido nítrico exhalado fraccionado (FeNO).

10 La descripción incluye además una composición farmacéutica que comprende un antagonista de anticuerpo anti-IL4R o un fragmento de unión al antígeno del mismo para usar en el tratamiento de asma o asma eosinófila de moderada a severa en un sujeto que lo necesita en el que el tratamiento comprende examinar al paciente para ver la presencia de un nivel de eosinófilo en sangre de al menos 300 células por microlitro y/o un nivel de eosinófilos en el esputo de al menos 3% y comenzar/continuar la administración de la composición farmacéutica si se encuentra dicho nivel de eosinófilos en sangre y/o nivel de eosinófilos en el esputo.

15 Otras realizaciones de la invención serán evidentes por una revisión de la siguiente descripción detallada.

Breve descripción de las figuras

20 La Figura 1 es un gráfico que muestra un gráfico de Kaplan-Meier de tiempo a exacerbación asmática en pacientes tratados con placebo (círculos abiertos) en comparación con pacientes tratados con anticuerpo anti-IL-4R mAb1 (asteriscos). El efecto del tratamiento con un anticuerpo anti-IL-4R mAb1 se sostiene en el tiempo, incluyendo después de 8 semanas, cuando los pacientes tienen un alto riesgo de desarrollar exacerbaciones debido a la retirada de esteroides. Las líneas verticales discontinuas indican la retirada de LABA.

25 La Figura 2 es un gráfico que muestra el cambio medio desde el punto de referencia en el volumen espiratorio forzado en 1 segundo (FEV1) en litros en pacientes tratados con placebo (triángulos abiertos) en comparación con pacientes tratados con anticuerpo anti-IL-4R mAb1 (círculos rellenos). Las líneas verticales discontinuas indican la retirada de LABA.

La Figura 3 es un gráfico que muestra el cambio medio desde el punto de referencia en el caudal espiratorio máximo por la mañana (AM PEF) en litros por minuto en pacientes tratados con placebo (triángulos abiertos) en comparación con pacientes tratados con anticuerpo anti-IL-4R mAb1 (círculos rellenos).

30 La Figura 4 es un gráfico que muestra el cambio medio desde el punto de referencia en el caudal espiratorio máximo por la tarde (PM PEF) en litros por minuto en pacientes tratados con placebo (triángulos abiertos) en comparación con pacientes tratados con anticuerpo anti-IL-4R mAb1 (círculos rellenos).

La Figura 5 es un gráfico que muestra el cambio medio desde el punto de referencia en el uso de albuterol en inhalaciones por día en pacientes tratados con placebo (triángulos abiertos) en comparación con pacientes tratados con anticuerpo anti-IL-4R mAb1 (círculos rellenos). Las líneas verticales discontinuas indican la retirada de LABA.

35 La Figura 6 es un gráfico que muestra el cambio medio desde el punto de referencia en la puntuación del cuestionario de control de asma de cinco puntos (ACQ5) en pacientes tratados con placebo (triángulos abiertos) en comparación con pacientes tratados con anticuerpo anti-IL-4R mAb1 (círculos rellenos). Las líneas verticales discontinuas indican la retirada de LABA.

40 La Figura 7 es un gráfico que muestra el cambio medio desde el punto de referencia en los despertares nocturnos en el número de veces por noche en pacientes tratados con placebo (triángulos abiertos) en comparación con pacientes tratados con anticuerpo anti-IL-4R mAb1 (círculos rellenos). Las líneas verticales discontinuas indican la retirada de LABA.

45 La Figura 8 es un gráfico que muestra el cambio de porcentaje medio desde el punto de referencia en TARC por visita en la semana 0, 1, 4, 8, y 12 de la población mITT tratada con placebo (círculos rellenos) en comparación con pacientes tratados con anticuerpo anti-IL-4R mAb1 (cuadrados rellenos). Las líneas verticales discontinuas indican la retirada de LABA.

50 La Figura 9 es un gráfico que muestra el cambio de porcentaje medio desde el punto de referencia en Eotaxina-3 por visita en la semana 0, 1, 4, 8 y 12 de la población mITT tratada con placebo (círculos rellenos) en comparación con pacientes tratados con anticuerpo anti-IL-4R mAb1 (cuadrados rellenos). Las líneas verticales discontinuas indican la retirada de LABA.

La Figura 10 es un gráfico que muestra el cambio de porcentaje medio desde el punto de referencia en el IgE total por visita en la semana 0, 1, 4, 8 y 12 en la población mITT tratada con placebo (círculos rellenos) en comparación con pacientes tratados con anticuerpo anti-IL-4R mAb1 (cuadrados rellenos). Las líneas verticales discontinuas indican la retirada de LABA.

La Figura 11 es un gráfico que muestra el cambio de porcentaje medio desde el punto de referencia en la periostina por visita en la semana 0, 1, 4, 8 y 12 en la población mITT tratada con placebo (círculos rellenos) en comparación con pacientes tratados con anticuerpo anti-IL-4R mAb1 (cuadrados rellenos).

5 La Figura 12 es un gráfico que muestra el cambio de porcentaje medio desde el punto de referencia en el antígeno carcinoembrionario (CEA) por visita en la semana 0, 1, 4, 8 y 12 en la población mITT tratada con placebo (círculos rellenos) en comparación con pacientes tratados con anticuerpo anti-IL-4R mAb1 (cuadrados rellenos).

La Figura 13 es un gráfico que muestra el cambio de porcentaje medio desde el punto de referencia en YKL-40 por visita en la semana 0, 1, 4, 8 y 12 en la población mITT tratada con placebo (círculos rellenos) en comparación con pacientes tratados con anticuerpo anti-IL-4R mAb1 (cuadrados rellenos).

10 La Figura 14 es un gráfico que muestra el cambio de porcentaje medio desde el punto de referencia en los eosinófilos en sangre por visita en la semana 0, 1, 2, 4, 6, 8 y 12 en la población mITT tratada con placebo (círculos rellenos) en comparación con pacientes tratados con anticuerpo anti-IL-4R mAb1 (cuadrados rellenos).

15 La Figura 15 es un gráfico que muestra el cambio de porcentaje medio en el nivel de óxido nítrico (NO) exhalado fraccionado desde el punto de referencia por visita en la semana 0, 4, 8 y 12 en la población mITT tratada con placebo (círculos rellenos) en comparación con pacientes tratados con anticuerpo anti-IL-4R mAb1 (cuadrados rellenos). Las líneas verticales discontinuas indican la retirada de LABA.

20 La Figura 16 es un diagrama de dispersión del cambio en FEV1 (L) desde el punto de referencia a la semana 12 frente a la fracción de punto de referencia del óxido nítrico exhalado (FeNO) (PPB) en la población mITT tratada con placebo (círculos abiertos y línea continua) en comparación con pacientes tratados con anticuerpo anti-IL-4R mAb1 (signo más y línea discontinua).

La Figura 17 es un diagrama de dispersión del cambio en AM-PEF (L/min) desde el punto de referencia a la semana 12 frente al FeNO (PPB) en el punto de referencia en la población mITT tratada con placebo (círculos abiertos y línea continua) en comparación con los pacientes tratados con anticuerpo anti-IL-4R mAb1 (signo más y línea discontinua).

25 La Figura 18 es un diagrama de dispersión del cambio en PM-PEF (L/min) desde el punto de referencia a la semana 12 frente al FeNO (PPB) en el punto de referencia en la población mITT tratada con placebo (círculos abiertos y línea continua) en comparación con los pacientes tratados con anticuerpo anti-IL-4R mAb1 (signo más y línea discontinua).

30 La Figura 19 es un diagrama de dispersión del cambio en FEV1 desde el punto de referencia a la semana 12 (L) frente al conteo de eosinófilos en sangre (GIGA/L) en la población mITT tratada con placebo (círculos abiertos y línea continua) en comparación con los pacientes tratados con anticuerpo anti-IL-4R mAb1 (signo más y línea discontinua).

35 La Figura 20 es un diagrama de dispersión del cambio en ACQ desde el punto de referencia en la semana 12 frente al conteo de eosinófilos en sangre (GIGA/L) en la población mITT tratada con placebo (círculos abiertos y línea continua) en comparación con pacientes tratados con anticuerpo anti-IL-4R mAb1 (signo más y línea discontinua).

La Figura 21 es un diagrama de dispersión del cambio en el uso por día de albuterol/levalbuterol desde el punto de referencia a la semana 12 frente al conteo de eosinófilos en sangre (GIGA/L) en la población mITT tratada con placebo (círculos abiertos y línea continua) en comparación con los pacientes tratados con anticuerpo anti-IL-4R mAb1 (signo más y línea discontinua).

40 La Figura 22 es un diagrama de dispersión del cambio en ACQ desde el punto de referencia a la semana 12 frente al punto de referencia de periostina en la población mITT tratada con placebo (círculos abiertos y línea continua) en comparación con pacientes tratados con anticuerpo anti-IL-4R mAb1 (signo más y línea discontinua).

45 La Figura 23 es un diagrama de dispersión del cambio en ACQ desde el punto de referencia a la semana 12 frente a YKL-40 en la población mITT tratada con placebo (círculos abiertos y línea continua) en comparación con los pacientes tratados con anticuerpos anti-IL-4R mAb1 (signo más y línea discontinua).

La Figura 24 es una representación esquemática de los regímenes de tiempo y dosificación para el tratamiento de los pacientes con asma.

50 La Figura 25 es un diagrama que describe la disposición del paciente de un estudio de grupo aleatorio, controlado por placebo, doble ciego, paralelo, dirigido por la administración subcutánea una vez a la semana de o bien 300 mg de mAb1 o placebo durante 12 semanas a pacientes con asma eosinófila persistente de moderada a severa que estaban controlados/no controlados por terapia de corticosteroides inhalados (ICS) y beta2 agonista de acción prolongada (LABA).

Las Figuras 26A y 26B son diagramas de dispersión de los síntomas del asma por la mañana (A) y por la tarde (B) medidos durante 12 semanas después de la administración de placebo (triángulos abiertos) o mAb1 (círculos rellenos).

5 La Figura 27 es un gráfico que muestra los niveles de IgE en suero en ratones IL-4/IL-4R humanizados (IL-4^{hu/hu}IL-4R^{hu/hu}) después de la prueba de los ácaros del polvo doméstico (APD) y el tratamiento con o bien anticuerpo anti-IL-4R o una molécula receptora señuelo IL-13Ra2-Fc, o tratamiento simulado.

Las medidas se hicieron en muestras tomadas en el día 40 (24 horas antes de la primera dosis del tratamiento) y al final del experimento en el día 85.

10 La Figura 28 es un gráfico que muestra los niveles de IgE en suero en ratones (Balb/c) tipo salvaje después de la prueba de los ácaros del polvo doméstico (APD) y el tratamiento con o control de isotipo, anticuerpo anti-IL-4R o una molécula receptora señuelo IL-13Ra2-Fc, o tratamiento simulado.

La Figura 29 es un gráfico que muestra el contenido en colágeno (expresado en términos de µg/lóbulo) de los pulmones de ratones IL-4/IL-4R humanizados después de la prueba APD y el tratamiento indicado.

15 La Figura 30 es un gráfico que muestra el contenido en colágeno (expresado en términos de µg/lóbulo) de los pulmones de ratones tipo salvaje después de la prueba APD y el tratamiento indicado.

La Figura 31A es un gráfico que muestra los niveles de eosinófilos y neutrófilos en ratones IL-4/IL-4R humanizados después de la prueba de APD y el tratamiento indicado, y la Figura 31B es un gráfico que muestra los niveles de células dendríticas residentes y células dendríticas inflamatorias, en ratones IL-4/IL-4R humanizados después de la prueba APD y el tratamiento indicado.

20 Descripción detallada

Antes de describirse la presente invención, se va a entender que esta invención no está limitada a los métodos particulares y las condiciones experimentales descritas, ya que dichos métodos y condiciones pueden variar. Se va a entender también que la terminología usada en la presente memoria es con el propósito de describir solo realizaciones particulares.

25 A menos que se defina otra cosa, todos los términos técnicos y científicos usados en la presente memoria tienen el mismo significado que se entiende normalmente por un experto en la técnica a la que pertenece esta invención.

30 Como se usa en la presente memoria, el término “aproximadamente”, cuando se usa en referencia a un valor numérico enumerado particular, significa que el valor puede variar desde el valor enumerado en no más del 1%. Por ejemplo, como se usa en la presente memoria, la expresión “aproximadamente 100” incluye 99 y 101 y todos los valores entre ellos (p.ej., 99,1, 99,2, 99,3, 99,4, etc.).

Como se usa en la presente memoria, los términos “tratar”, “que trata”, o similares, significan aliviar síntomas, eliminar la causa de los síntomas en una base o bien temporal o permanente, o evitar o ralentizar la aparición de síntomas de trastorno o condición indicada.

Los métodos preferidos y materiales se describen ahora.

35 Métodos para reducir la incidencia de exacerbaciones asmáticas

La presente descripción incluye métodos para reducir la incidencia de exacerbaciones asmáticas en un sujeto que lo necesita que comprenden administrar una composición farmacéutica que comprende un antagonista del receptor de interleuquina-4 (IL-4R) al sujeto. Como se usa en la presente memoria, la expresión “exacerbación asmática” significa un aumento en la gravedad y/o frecuencia y/o duración de uno o más síntomas o indicios de asma. Una “exacerbación asmática” incluye también cualquier deterioro en la salud respiratoria de un sujeto que necesita y o es tratable mediante una intervención terapéutica para asma (tal como, p.ej., tratamiento con esteroides, tratamiento con corticosteroides inhalados, hospitalización, etc.). Según ciertas realizaciones de la invención, una exacerbación asmática se define como una o más de las siguientes: (a) una reducción del 30% o más desde el punto de referencia en el flujo espiratorio máximo de la mañana (“AM PEF”, como se define en otro sitio en la presente memoria) en dos días consecutivos; (b) seis o más dosis aliviadoras adicionales de albuterol o levalbuterol en un periodo de 24 horas (en comparación con el punto de referencia) en dos días consecutivos; y (c) un deterioro del asma (p.ej., como se determina por un médico u otro personal médico) que necesita al menos uno de: (i) tratamiento de esteroides sistémico (oral y/o parenteral), o (ii) un aumento en los corticosteroides inhalados a al menos 4 veces el nivel del punto de referencia, o (iii) hospitalización.

50 En ciertos ejemplos, una exacerbación asmática puede categorizarse como una “exacerbación asmática severa”. Una exacerbación asmática severa significa un incidente que necesita intervención inmediata en forma de tratamiento con o bien corticosteroides sistémicos o bien con corticosteroides inhalados a cuatro o más veces la dosis tomada antes del incidente. La expresión general “exacerbación asmática” por lo tanto incluye y abarca la

subcategoría más específica de “exacerbaciones asmáticas severas”. Por consiguiente, la presente descripción incluye métodos para reducir la incidencia de exacerbaciones asmáticas severas en un paciente que lo necesita.

Una “reducción en la incidencia” de una exacerbación asmática significa que un sujeto que ha recibido una composición farmacéutica de la presente invención experimenta menos exacerbaciones asmáticas (es decir, al menos una exacerbación menos) después del tratamiento que antes del tratamiento, o no experimenta exacerbaciones asmáticas durante al menos 4 semanas (p.ej., 4, 6, 8, 12, 14 o más semanas) después del inicio del tratamiento con una composición farmacéutica de la presente invención. Una “reducción en la incidencia” de una exacerbación asmática significa de forma alternativa que, después de la administración de una composición farmacéutica de la presente invención, la probabilidad de que un sujeto experimente una exacerbación asmática se disminuye en al menos 10% (p.ej., 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50% o más) en comparación con un sujeto que no ha recibido una composición farmacéutica de la presente invención.

Métodos para mejorar los parámetros asociados con el asma

La presente descripción también incluye métodos para mejorar uno o más parámetros asociados con el asma en un sujeto que lo necesita, en la que los métodos comprenden administrar una composición farmacéutica que comprende un antagonista del receptor de interleuquina-4 (IL-4R) al sujeto. Por propósitos de la invención, una reducción en la incidencia de una exacerbación asmática (como se describe anteriormente) puede correlacionar con una mejora en uno o más parámetros asociados con asma; sin embargo, dicha correlación no se observa necesariamente en todos los casos.

Ejemplos de “parámetros asociados con asma” incluyen: (a) volumen espiratorio forzado en 1 segundo (FEV1); (b) caudal espiratorio máximo (PEF), que incluye PEF de la mañana (AM PEF) y PEF de la tarde (PM PEF); (c) uso de un broncodilatador inhalado tal como albuterol o levalbuterol; (d) puntuación del Cuestionario de control de asma de cinco puntos (ACQ5); (e) despertares nocturnos; y (f) puntuación de la Prueba de resultado seno-nasal de 22 puntos (SNOT-22). Una “mejora en un parámetro asociado con asma” significa un aumento desde el punto de referencia de uno o más de FEV1, AM PEF o PM PEF, y/o una disminución desde el punto de referencia de uno o más de uso diario de albuterol/levalbuterol, puntuación ACQ5, despertares nocturnos promedio o puntuación SNOT-22. Como se usa en la presente memoria, el término “punto de referencia” con respecto a un parámetro asociado al asma, significa el valor numérico del parámetro asociado con asma para un paciente antes de o en el momento de administración de una composición farmacéutica de la presente invención.

Para determinar si un parámetro asociado con asma ha “mejorado”, el parámetro se cuantifica en el punto de referencia y a un punto temporal después de la administración de la composición farmacéutica de la presente invención. Por ejemplo, un parámetro asociado con asma puede medirse en el día 1, día 2, día 3, día 4, día 5, día 6, día 7, día 8, día 9, día 10, día 11, día 12, día 14, o a la semana 3, semana 4, semana 5, semana 6, semana 7, semana 8, semana 9, semana 10, semana 11, semana 12, semana 13, semana 14, semana 15, semana 16, semana 17, semana 18, semana 19, semana 20, semana 21, semana 22, semana 23, semana 24 o más tarde, después del tratamiento inicial con una composición farmacéutica de la presente invención. La diferencia entre el valor del parámetro a un punto temporal particular después del inicio del tratamiento y el valor del parámetro en el punto de referencia se usa para establecer si ha habido una “mejora” en el parámetro asociado con asma (p.ej., un aumento o disminución, según sea el caso, dependiendo del parámetro específico que se mida).

Los términos “obtener” o “que obtiene” como se usan en la presente invención, se refieren a obtener la posesión de una entidad física, o un valor, p.ej., un valor numérico, “obteniendo directamente” u “obteniendo indirectamente” la entidad física o valor, tal como un parámetro asociado con asma. “Obtener directamente” significa realizar un proceso (p.ej. realizar un método sintético o analítico) para obtener la entidad física o valor. “Obtener indirectamente” se refiere a recibir la entidad física o valor de otra parte o fuente (p.ej., un tercer laboratorio que obtiene directamente la entidad física o valor). Obtener directamente una entidad física incluye realizar un proceso que incluye un cambio físico en una sustancia física, p.ej., un material de partida. Cambios ejemplares incluyen hacer una entidad física de dos o más materiales de partida, compartir o fragmentar una sustancia, separar o purificar una sustancia, combinar dos o más entidades separadas en una mezcla, realizar una reacción química que incluye romper o formar un enlace covalente o no covalente. Obtener directamente un valor incluye realizar un proceso que incluye un cambio físico en una muestra u otra sustancia, p.ej., realizar un proceso analítico que incluye un cambio físico en una sustancia, p.ej., una muestra, analito o reactivo (a veces denominado en la presente memoria como “análisis físico”).

La información que se obtiene indirectamente puede proporcionarse en forma de un informe, p.ej., suministrado en papel o forma electrónica, de manera que desde una base de datos en línea o aplicación (una “App”). El informe o información puede proporcionarse mediante, por ejemplo, una institución de atención sanitaria, tal como un hospital o clínica; o un proveedor de atención sanitaria, tal como un doctor o enfermera.

Volumen espiratorio forzado en 1 segundo (FEV1). Según ciertas realizaciones de la invención, la administración de un antagonista de IL-4R a un paciente da por resultado un aumento desde el punto de referencia del volumen espiratorio forzado en 1 segundo (FEV1). Los métodos para medir FEV1 se conocen en la técnica. Por ejemplo, un espirómetro que cumple las recomendaciones de la Sociedad torácica americana (ATS)/Sociedad respiratoria europea (ERS) de 2005 puede usarse para medir FEV1 en un paciente. La estandarización de la espirometría

ATS/ERS puede usarse como una guía. La espirometría se realiza generalmente entre 6 y 10 AM después de al menos 6 horas sin administrar albuterol. Las pruebas de función pulmonar se miden generalmente en la posición de sentado, y la medida más alta se graba para FEV1 (en litros).

La presente descripción incluye métodos terapéuticos que dan por resultado un aumento de FEV1 desde el punto de referencia de al menos 0,05 L en la semana 12 después del inicio del tratamiento con una composición farmacéutica que comprende un antagonista de anti-IL-4R. Por ejemplo, según la invención, la administración de un antagonista de IL-4R a un sujeto que lo necesita provoca un aumento de FEV1 desde el punto de referencia de aproximadamente 0,05 L, 0,10 L, 0,12 L, 0,14 L, 0,16 L, 0,18 L, 0,20 L, 0,22 L, 0,24 L, 0,26 L, 0,28 L, 0,30 L, 0,32 L, 0,34 L, 0,36 L, 0,38 L, 0,40 L, 0,42 L, 0,44 L, 0,46 L, 0,48 L, 0,50 L o más en la semana 12.

Flujo espiratorio máximo por la mañana y por la tarde (AM PEF y PM PEF). Según ciertas realizaciones de la invención, la administración de un antagonista de IL-4R a un paciente da por resultado un aumento desde el punto de referencia del flujo espiratorio máximo por la mañana (AM) y/o por la tarde (PM) (AM PEF y/o PM PEF). Los métodos para medir PEF se conocen en la técnica. Por ejemplo, según un método para medir PEF, se presenta a los pacientes un PEF metro electrónico para grabarlos PEF de la mañana (AM) y de la tarde (PM) (además del uso de albuterol diario, puntuaciones de síntomas de asma por la mañana y por la tarde, y número de despertares nocturnos debido a los síntomas del asma que necesitan medicamentos de rescate). Se instruye a los pacientes en el uso del dispositivo, y se proporcionan instrucciones escritas en el uso del PEF metro electrónico a los pacientes. Además, un profesional médico puede instruir a los pacientes en cómo grabar las variables pertinentes en el PEF metro electrónico. AM PEF se realiza generalmente en los 15 minutos después de levantarse (entre 6 am y 10 am) antes de tomar ningún albuterol. PM PEF se realiza generalmente por la tarde (entre 6 am y 10 am) antes de tomar ningún albuterol. Los sujetos intentarían no administrarse albuterol durante al menos 6 horas antes de medir su PEF. Se realizan tres intentos de PEF por el paciente y los 3 valores se graban por el PEF metro electrónico. Normalmente se usa el mayor valor para la evaluación. Se puede calcular el punto de referencia de AM PEF como la medida AM media grabada durante los 7 días antes de la administración de la primera dosis de composición farmacéutica que comprende el antagonista de IL-4R, y el punto de referencia PM PEF puede calcularse como la medida PM media grabada durante los 7 días antes de la administración de la primera dosis de composición farmacéutica que comprende el antagonista de IL-4R.

La presente descripción incluye métodos terapéuticos que dan por resultado un aumento de AM PEF y/o PM PEF desde el punto de referencia de al menos 1,0 L/min en la semana 12 después del inicio del tratamiento con una composición farmacéutica que comprende un antagonista de anti-IL-4R. Por ejemplo, según la invención, la administración de un antagonista de IL-4R a un sujeto que lo necesita provoca un aumento en PEF desde el punto de referencia de aproximadamente 0,5 L/min, 1,0 L/min, 1,5 L/min, 2,0 L/min, 2,5 L/min, 3,0 L/min, 3,5 L/min, 4,0 L/min, 4,5 L/min, 5,0 L/min, 5,5 L/min, 6,0 L/min, 6,5 L/min, 7,0 L/min, 7,5 L/min, 8,0 L/min, 8,5 L/min, 9,0 L/min, 9,5 L/min, 10,0 L/min, 10,5 L/min, 11,0 L/min, 12,0 L/min, 15 L/min, 20 L/min o más en la semana 12.

Uso de albuterol/levalbuterol. Según ciertas realizaciones de la invención, administración de un antagonista de IL-4R a un paciente da por resultado una disminución desde el punto de referencia del uso diario de albuterol o levalbuterol. El número de inhalaciones de albuterol/levalbuterol puede grabarse diariamente por los pacientes en un diario, PEF metro, u otro dispositivo de grabación. Durante el tratamiento con la composición farmacéutica de la invención, el uso de albuterol/levalbuterol puede estar típicamente en una base según sea necesario para los síntomas, no una base regular o profilácticamente. El número de referencia de las inhalaciones/día de albuterol/levalbuterol puede calcularse en la media para los 7 días antes de la administración de la primera dosis de composición farmacéutica que comprende el antagonista de IL-4R.

La presente descripción incluye métodos terapéuticos que dan por resultado una disminución en el uso de albuterol/levalbuterol desde el punto de referencia de al menos 0,25 dosis por día en la semana 12 después del inicio del tratamiento con una composición farmacéutica que comprende un antagonista anti-IL-4R. Por ejemplo, según la invención, la administración de un antagonista de IL-4R a un sujeto que lo necesita provoca una disminución en el uso de albuterol/levalbuterol desde el punto de referencia a aproximadamente 0,25 dosis por día, 0,50 dosis por día, 0,75 dosis por día, 1,00 dosis por día, 1,25 dosis por día, 1,5 dosis por día, 1,75 dosis por día, 2,00 dosis por día, 2,25 dosis por día, 2,5 dosis por día, 2,75 dosis por día, 3,00 dosis por día, o más en la semana 12.

Puntuación del Cuestionario de control de asma de 5 puntos (ACQ). Según ciertas realizaciones de la invención, la administración de un antagonista de IL-4R a un paciente da por resultado una disminución desde el punto de referencia de la puntuación del Cuestionario de control de asma de cinco puntos (ACQ5). El ACQ5 es un cuestionario validado para evaluar el control del asma.

La presente descripción incluye métodos terapéuticos que dan por resultado una disminución en la puntuación de ACQ5 desde el punto de referencia de al menos 0,10 puntos en la semana 12 después del inicio del tratamiento con una composición farmacéutica que comprende un antagonista de anti-IL-4R. Por ejemplo, según la invención, la administración de un antagonista de IL-4R a un sujeto que lo necesita provoca una disminución en la puntuación ACQ desde el punto de referencia de aproximadamente 0,10 puntos, 0,15 puntos, 0,20 puntos, 0,25 puntos, 0,30

puntos, 0,35 puntos, 0,40 puntos, 0,45 puntos, 0,50 puntos, 0,55 puntos, 0,60 puntos, 0,65 puntos, 0,70 puntos, 0,75 puntos, 0,80 puntos, 0,85 puntos o más en la semana 12.

Despertares nocturnos. Según ciertas realizaciones de la invención, la administración de un antagonista de IL-4R a un paciente da por resultado una disminución desde el punto de referencia del número promedio de despertares nocturnos.

La presente descripción incluye métodos terapéuticos que en una disminución en el número promedio de despertares nocturnos desde el punto de referencia de al menos aproximadamente 0,10 veces por noche en la semana 12 después del inicio del tratamiento con una composición farmacéutica que comprende un antagonista de anti-IL-4R. Por ejemplo, según la invención, la administración de un antagonista de IL-4R a un sujeto que lo necesita provoca una disminución en el número promedio de despertares nocturnos desde el punto de referencia de aproximadamente 0,10 veces por noche, 0,15 veces por noche, 0,20 veces por noche, 0,25 veces por noche, 0,30 veces por noche, 0,35 veces por noche, 0,40 veces por noche, 0,45 veces por noche, 0,50 veces por noche, 0,55 veces por noche, 0,60 veces por noche, 0,65 veces por noche, 0,70 veces por noche, 0,75 veces por noche, 0,80 veces por noche, 0,85 veces por noche, 0,90 veces por noche, 0,95 veces por noche, 1,0 vez por noche, 2,0 veces por noche, o más en la semana 12.

Puntuación de la prueba de resultado senonasal de 22 puntos (SNOT-22). Según ciertas realizaciones de la invención, la administración de un antagonista de IL-4R a un paciente da por resultado una disminución desde el punto de referencia de la Prueba de resultado senonasal de 22 puntos (SNOT-22). El SNOT-22 es un cuestionario validado para evaluar el impacto de la rinosinusitis crónica en la calidad de vida (Hopkins et al 2009, Clin. Otolaryngol. 34:447-454).

La presente descripción incluye métodos terapéuticos que dan por resultado una disminución en la puntuación SNOT-22 desde el punto de referencia de al menos 1 punto en la semana 12 después del inicio del tratamiento con una composición farmacéutica que comprende un antagonista de anti-IL-4R. Por ejemplo, según la invención, la administración de un antagonista de IL-4R a un sujeto que lo necesita provoca una disminución en la puntuación SNOT-22 desde el punto de referencia de aproximadamente 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 puntos, o más en la semana 12.

Métodos para tratar el asma

La presente descripción, según ciertas realizaciones, proporciona métodos para tratar el asma, que incluyen, p.ej., asma eosinófila, en un sujeto que lo necesita, en la que los métodos comprenden administrar una composición farmacéutica que comprende un antagonista de receptor de interleuquina-4 (IL-4R) al sujeto. En ciertas realizaciones, los métodos de la presente descripción son útiles para tratar el asma eosinófila de moderada a severa en un sujeto (p.ej., asma eosinófila persistente de moderada a severa).

Según la invención, se identifica un sujeto que tiene asma eosinófila de moderada a severa si el sujeto muestra un nivel eosinófilo en sangre de al menos 300 células por microlitro, y/o un nivel eosinófilo en el esputo de al menos 3%. Cualquier método conocido y disponible en la técnica para medir el nivel eosinófilo en sangre y/o esputo puede usarse en el contexto de la invención para identificar a un sujeto que tiene asma eosinófila de moderada a severa y que es por lo tanto un sujeto adecuado para los métodos terapéuticos de la presente descripción.

Según un aspecto relacionado de la presente descripción, se proporcionan métodos para tratar asma que comprenden: (a) seleccionar un paciente que muestra un nivel eosinófilo en sangre de al menos 300 células por microlitro y/o un nivel eosinófilo en esputo de al menos 3%; y (b) administrar al paciente una composición farmacéutica que comprende un antagonista de IL-4R.

En otro aspecto, se proporcionan métodos para reducir o eliminar la dependencia de un paciente de asma de los corticosteroides inhalados (ICS) y/o beta-agonistas de acción prolongada (LABA) durante el tratamiento de asma de moderada a severa. En ciertas realizaciones, los métodos comprenden: seleccionar un paciente con asma de moderada a severa que no está controlado o parcialmente controlado con una terapia de base; administrar al paciente una dosis definida de un antagonista de IL-4R, preferiblemente un anticuerpo anti-IL-4R, para un periodo de tratamiento inicial mientras se mantiene la terapia de base del paciente durante el periodo de tratamiento inicial; y reducir gradualmente la dosis de uno o más componentes de la terapia de base durante un periodo posterior de tratamiento mientras se continua administrando el antagonista de IL-4R. El término "terapia de base" se refiere a agentes terapéuticos estándar o convencionales conocidos en la técnica que se usan para tratar asma. En ciertas realizaciones, la terapia de base comprende un ICS, un LABA o una combinación de ambos. En algunas realizaciones, la dosis de ICS y/o LABA se elimina o retira completamente tras el periodo de tratamiento inicial. Por ejemplo, un LABA, tal como salmeterol o formoterol se administra en un periodo de tratamiento inicial y se para o retira completamente en el periodo de tratamiento posterior.

Un ejemplo de un régimen de tratamiento para un paciente con asma de moderada a severa se muestra en la Figura 24, en la que un antagonista de IL-4R se administra a un paciente con asma moderada a severa. Durante un periodo de tratamiento inicial (también denominado la "fase estable"), se administran un LABA y un ICS al paciente como terapia de base. Durante un periodo de tratamiento posterior (también denominado "fase de retirada"), la

administración del LABA se para, es decir, el LABA se retira o elimina. El ICS se reduce gradualmente durante el periodo de tratamiento posterior hasta que se elimina.

En un aspecto relacionado, se proporcionan métodos para tratar asma que comprenden una terapia suplementaria a la terapia de base con retirada de la terapia de base sistemática. En ciertas realizaciones, un antagonista de IL-4R se administra como una terapia suplementaria a un paciente con asma que está en terapia de base durante un cierto periodo de tiempo (p.ej., 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 1 mes, 2 meses, 5 meses, 12 meses, 18 meses, 24 meses o más) (también denominada la "fase estable"). En algunas realizaciones, la terapia de base comprende un ICS y/o un LABA. La fase estable está seguida por una fase de retirada de la terapia de base, en la que uno o más componentes que comprenden la terapia de base se retiran, o reducen o eliminan, mientras continua la terapia suplementaria. En algunas realizaciones, la terapia de base puede reducirse en aproximadamente 5%, aproximadamente 10%, aproximadamente 20%, aproximadamente 30%, aproximadamente 40%, aproximadamente 50% o en más durante la fase de retirada. La fase de retirada puede durar 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas, 5 semanas, 6 semanas, 7 semanas, 8 semanas, 9 semanas, 10 semanas, 11 semanas, 12 semanas o más. En una realización preferida la terapia de base puede reducirse en aproximadamente 5% durante la fase de retirada y la fase de retirada puede durar 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas, 5 semanas, 6 semanas, 7 semanas, 8 semanas, 9 semanas, 10 semanas, 11 semanas, 12 semanas o más. En una realización preferida la terapia de base puede reducirse en aproximadamente 10% durante la fase de retirada y la fase de retirada puede durar 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas, 5 semanas, 6 semanas, 7 semanas, 8 semanas, 9 semanas, 10 semanas, 11 semanas, 12 semanas o más. En una realización preferida la terapia de base puede reducirse en aproximadamente 20% durante la fase de retirada y la fase de retirada puede durar 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas, 5 semanas, 6 semanas, 7 semanas, 8 semanas, 9 semanas, 10 semanas, 11 semanas, 12 semanas o más. En una realización preferida la terapia de base puede reducirse en aproximadamente 30% durante la fase de retirada y la fase de retirada puede durar 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas, 5 semanas, 6 semanas, 7 semanas, 8 semanas, 9 semanas, 10 semanas, 11 semanas, 12 semanas o más. En una realización preferida la terapia de base puede reducirse en aproximadamente 40% durante la fase de retirada y la fase de retirada puede durar 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas, 5 semanas, 6 semanas, 7 semanas, 8 semanas, 9 semanas, 10 semanas, 11 semanas, 12 semanas o más. En una realización preferida la terapia de base puede reducirse en aproximadamente 50% o más durante la fase de retirada y la fase de retirada puede durar 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas, 5 semanas, 6 semanas, 7 semanas, 8 semanas, 9 semanas, 10 semanas, 11 semanas, 12 semanas o más.

En algunas otras realizaciones, la presente descripción incluye métodos para tratar o aliviar condiciones o complicaciones asociadas con el asma, tal como rinosinusitis crónica, rinitis alérgica, rinosinusitis fúngica alérgica, aspergilosis bronco-pulmonar alérgica, enfermedad de las vías aéreas unificadas, síndrome de Churg-Strauss, vasculitis, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) y broncoespasmo inducido por el ejercicio.

La presente descripción también incluye métodos para tratar el asma persistente. Como se usa en la presente memoria, el término "asma persistente" significa que el sujeto tiene síntomas al menos una vez a la semana por el día y/o por la noche, con los síntomas durando de unas pocas horas a unos pocos días. En ciertas realizaciones alternativas, el asma persistente es "ligeramente persistente" (p.ej., más de dos veces a la semana pero menos de diario con síntomas suficientemente severos para interferir con las actividades diarias o el sueño y/o donde la función pulmonar es normal o reversible con inhalación de un broncodilatador), "moderadamente persistente" (p.ej., síntomas que se dan diariamente con sueño interrumpido al menos semanalmente y/o con función pulmonar moderadamente anormal), o "severamente persistente" (p.ej., síntomas continuos a pesar del uso correcto de medicaciones aprobadas y/o donde la función pulmonar está gravemente afectada).

Antagonistas del receptor de interleuquina-4

Los métodos de la presente descripción comprenden administrar a un sujeto que lo necesita una composición terapéutica que comprende un antagonista del receptor de interleuquina-4 (IL-4R). Como se usa en la presente memoria, un "antagonista de IL-4R" es cualquier agente que se une o interacciona con IL-4R e inhibe la función de señalización biológica normal de IL-4R cuando IL-4R se expresa en una célula *in vitro* o *in vivo*. Ejemplos no limitantes de categorías de antagonistas de IL-4R incluyen antagonistas de IL-4R de molécula pequeña, aptámeros anti-IL-4R, antagonistas de IL-4R con base peptídica (p.ej., moléculas "peptiduerpo"), y anticuerpos o fragmentos de unión al antígeno de anticuerpos que se unen específicamente al IL-4R humano.

El término "IL4R humano" (hIL-4R) se refiere a un receptor de citoquina humana que se une específicamente a la interleuquina-4 (IL-4), tal como IL-4R α (SEQ ID NO:274).

El término "anticuerpo" se refiere a moléculas de inmunoglobulina que comprenden cuatro cadenas polipeptídicas, dos cadenas pesadas (H) y dos cadenas ligeras (L) interconectadas por enlaces disulfuro, además de multímeros de las mismas (p.ej., IgM). Cada cadena pesada comprende una región variable de la cadena pesada (abreviada en esta memoria como HCVR o V_H) y una región constante de la cadena pesada. La región constante de la cadena pesada comprende tres dominios, C_H1, C_H2 y C_H3. Cada cadena ligera comprende una región variable de la cadena ligera (abreviada en esta memoria como LCVR o V_L) y una región constante de cadena ligera. La región constante de cadena ligera comprende un dominio (C_L1). Las regiones V_H y V_L pueden subdividirse además en regiones de

hipervariabilidad, denominadas regiones determinantes de complementariedad (CDRs), intercaladas con regiones que están más conservadas, denominadas regiones marco (FR). Cada V_H y V_L está compuesta por tres CDRs y cuatro FRs, dispuestos desde el extremo amino al extremo carboxi en el siguiente orden: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. En diferentes realizaciones, las FRs del anticuerpo anti-IL-4R (o parte de unión al antígeno del mismo) pueden ser idénticas a las secuencias de la línea germinal humana, o pueden estar modificadas de forma natural o artificial. Una secuencia de consenso de aminoácidos puede definirse en base a un análisis paralelo de dos o más CDRs.

El término “anticuerpo” también incluye fragmentos de unión al antígeno de moléculas de anticuerpo completas. Los términos “parte de unión al antígeno” de un anticuerpo, “fragmento de unión al antígeno” de un anticuerpo, y similares, como se usa en la presente memoria, incluyen cualquier polipéptido o glucoproteína que se da de forma natural, obtenible enzimáticamente, sintética o creada por ingeniería genética, que se une específicamente a un antígeno para formar un complejo. Los fragmentos de unión al antígeno de un anticuerpo pueden derivarse, p.ej., de moléculas de anticuerpo enteras usando cualquier técnica estándar adecuada, tal como digestión proteolítica o técnicas de ingeniería genética recombinante que implican la manipulación y expresión de ADN que codifica dominios variables y opcionalmente constantes del anticuerpo. Dicho ADN se conoce y/o está fácilmente disponible desde, p.ej., fuentes comerciales, bibliotecas de ADN (que incluyen, p.ej., bibliotecas de fago-anticuerpo), o puede sintetizarse. El ADN puede secuenciarse y manipularse químicamente o usando técnicas de biología molecular, por ejemplo, disponer uno o más dominios variables y/o constantes en una configuración adecuada, o introducir codones, crear residuos de cisteína, modificar, añadir o eliminar aminoácidos, etc.

Los ejemplos no limitantes de fragmentos de unión a antígenos incluyen: (i) fragmentos Fab; (ii) fragmentos $F(ab')_2$; (iii) fragmentos Fd; (iv) fragmentos Fv; (v) moléculas Fv de cadena sencilla (scFv); (vi) fragmentos dAb; y (vii) unidades de reconocimiento mínimo que consisten en los residuos de aminoácidos que imitan la región hipervariable de un anticuerpo (p.ej., una región determinante de complementariedad (CDR) aislada tal como un péptido CDR3), o un péptido FR3-CDR3-FR4 restringido. Otras moléculas diseñadas, tales como anticuerpos específicos de dominio, anticuerpos de dominio sencillo, anticuerpos de dominio eliminado, anticuerpos quiméricos, anticuerpos injertados con CDR, diacuerpos, triacuerpos, tetracuerpos, minicuerpos, nanocuerpos (p.ej. nanocuerpos monovalentes, nanocuerpos bivalentes, etc.), compuestos inmunofarmacéuticos modulares pequeños (SMIPs), y dominios IgNAR variables de tiburón, también se incluyen en la expresión “fragmento de unión a antígeno”.

Un fragmento de unión al antígeno de un anticuerpo comprenderá típicamente al menos un dominio variable. El dominio variable puede ser de cualquier tamaño o composición de aminoácidos y comprenderá generalmente al menos un CDR que es adyacente a o está rodeado con una o más secuencias de marco. En los fragmentos de unión al antígeno que tienen un dominio V_H asociado con un dominio V_L , los dominios V_H y V_L pueden estar situados el uno respecto al otro en cualquier disposición adecuada. Por ejemplo, la región variable puede ser dimerica y contener dímeros V_H - V_H , V_H - V_L o V_L - V_L . De forma alternativa, el fragmento de unión al antígeno de un anticuerpo puede contener un dominio V_H o V_L monomérico.

En ciertas realizaciones, un fragmento de unión al antígeno de un anticuerpo puede contener al menos un dominio variable unido de forma covalente a al menos un dominio constante. Las configuraciones ejemplares, no limitantes, de dominios variables y constantes que pueden encontrarse en un fragmento de unión al antígeno de un anticuerpo de la presente descripción incluyen: (i) V_H - C_H1 ; (ii) V_H - C_H2 ; (iii) V_H - C_H3 ; (iv) V_H - C_H1 - C_H2 ; (v) V_H - C_H1 - C_H2 - C_H3 ; (vi) V_H - C_H2 - C_H3 ; (vii) V_H - C_L ; (viii) V_L - C_H1 ; (ix) V_L - C_H2 ; (x) V_L - C_H3 ; (xi) V_L - C_H1 - C_H2 ; (xii) V_L - C_H1 - C_H2 - C_H3 ; (xiii) V_L - C_H2 - C_H3 ; y (xiv) V_L - C_L . En cualquier configuración de dominios variables y constantes, incluyendo cualquiera de las configuraciones ejemplares enumeradas anteriormente, los dominios variables y constantes pueden estar unidos directamente a cualquier otro o pueden estar unidos por una región bisagra o conectora total o parcial. Una región bisagra puede consistir en al menos 2 (p.ej., 5, 10, 15, 20, 40, 60 o más) aminoácidos que dan por resultado una unión flexible o semi-flexible entre dominios variables y/o constantes adyacentes en una única molécula polipeptídica, preferiblemente a región bisagra puede consistir en entre 2 a 60 aminoácidos, preferiblemente entre 5 a 50, o preferiblemente entre 10 a 40 aminoácidos. Además, un fragmento de unión al antígeno de un anticuerpo de la presente descripción puede comprender un homo-dímero o hetero-dímero (u otro multímero) de cualquiera de las configuraciones de dominio variable y constante enumeradas anteriormente en asociación no covalente con cualquier otro y/o con uno o más dominios V_H o V_L monoméricos (p.ej., mediante enlace(s) disulfuro).

Como con las moléculas de anticuerpo completas, los fragmentos de unión al antígeno pueden ser monoespecíficos o multiespecíficos (p.ej., biespecíficos). Un fragmento de unión al antígeno multiespecífico de un anticuerpo comprenderá típicamente al menos dos dominios variables diferentes, en los que cada dominio variable es capaz de unirse específicamente a un antígeno separado o a un epítipo diferente en el mismo antígeno. Cualquier formato de anticuerpo multiespecífico, puede adaptarse para usar en el contexto de un fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo de la presente descripción usando técnicas rutinarias disponibles en la técnica.

La región constante de un anticuerpo es importante en la capacidad de un anticuerpo para fijar el complemento y mediar en la citotoxicidad dependiente de la célula. Por consiguiente, el isotipo de un anticuerpo puede seleccionarse en la base de si es deseable para el anticuerpo mediar en la citotoxicidad.

El término “anticuerpo humano” incluye anticuerpos que tienen regiones variables y constantes derivadas de secuencias de inmunoglobulina de línea germinal humana. Los anticuerpos humanos caracterizados en la presente descripción pueden sin embargo incluir residuos de aminoácidos no codificados por las secuencias de inmunoglobulina de línea germinal humana (p.ej., mutaciones introducidas por mutagénesis aleatoria o específica del sitio *in vitro* o por mutación somática *in vivo*), por ejemplo, en los CDRs y en particular CDR3. Sin embargo, el término “anticuerpo humano” no incluye anticuerpos en que las secuencias CDR derivadas de la línea germinal de otras especies de mamíferos, tal como un ratón, se han injertado en las secuencias marco humanas.

El término “anticuerpo humano recombinante” incluye todos los anticuerpos humanos que se preparan, expresan, crean o aíslan por medios recombinantes, tal como anticuerpos expresados usando un vector de expresión recombinante transfectado en una célula huésped (descrito más abajo), anticuerpos aislados de una biblioteca de anticuerpos humanos combinatorios, recombinantes (descritos más abajo), anticuerpos aislados de un animal (p.ej., un ratón) que es transgénico para los genes de inmunoglobulina humana (véase p.ej., Taylor et al. (1992) Nucl. Acids Res. 20:6287-6295) o anticuerpos preparados, expresados, creados o aislados por cualquier otro medio que implica la unión de secuencias génicas de inmunoglobulina humana a otras secuencias de ADN. Dichos anticuerpos humanos recombinantes tienen regiones variables y constantes derivadas de secuencias de inmunoglobulina de línea germinal humana. En ciertas realizaciones, sin embargo, dichos anticuerpos humanos recombinantes se someten a mutagénesis *in vitro* (o, cuando se usa un animal transgénico para secuencias Ig humanas, mutagénesis somática *in vivo*) y por consiguiente las secuencias de aminoácidos de las regiones V_H y V_L de los anticuerpos recombinantes son secuencias que, aunque se derivan de y están relacionadas con las secuencias V_H y V_L de línea germinal humana, pueden no existir de forma natural en el repertorio de línea germinal de anticuerpos humanos *in vivo*.

Los anticuerpos humanos pueden existir en dos formas que se asocian con la heterogeneidad bisagra. En una forma, una molécula de inmunoglobulina comprende un constructo estable de cuatro cadenas de aproximadamente 150-160 kDa en que los dímeros se mantienen juntos mediante un enlace disulfuro de la cadena pesada intercadena. En una segunda forma, los dímeros no están unidos por medio de enlaces disulfuro inter-cadena y se forma una molécula de aproximadamente 75-80 kDa compuesta de una cadena ligera y pesada acopladas de forma covalente (semianticuerpo). Estas formas han sido extremadamente difíciles de separar, incluso después de purificación de afinidad.

La frecuencia de aparición de la segunda forma en varios isotipos de IgG intactos es debido a, aunque no está limitado a, diferencias estructurales asociadas con el isotipo de la región bisagra del anticuerpo. Una única sustitución de aminoácido en la región bisagra de la bisagra IgG4 humana puede reducir significativamente la aparición de la segunda forma (Angal et al. (1993) Molecular Immunology 30:105) a niveles observados típicamente usando una bisagra IgG1 humana. La presente descripción incluye anticuerpos que tienen una o más mutaciones en la bisagra, región C_H2 o C_H3, que pueden ser deseables, por ejemplo, en la producción, para mejorar el rendimiento de la forma de anticuerpo deseada.

Un “anticuerpo aislado” significa un anticuerpo que se ha identificado y separado y/o recuperado de al menos un componente de su medio natural. Por ejemplo, un anticuerpo que se ha separado o quitado de al menos un componente de un organismo, o de un tejido o célula en que el anticuerpo existe de forma natural o se produce de forma natural, es un “anticuerpo aislado” para los propósitos de la presente descripción. Un anticuerpo aislado también incluye un anticuerpo *in situ* en una célula recombinante. Los anticuerpos aislados son anticuerpos que se han sometido a al menos una etapa de purificación o aislamiento. Según ciertas realizaciones, un anticuerpo aislado puede estar esencialmente libre de otro material celular y/o compuestos químicos.

El término “se une específicamente”, o similar, significa que un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo forma un complejo con un antígeno que es relativamente estable en condiciones fisiológicas. Los métodos para determinar si un anticuerpo se une específicamente a un antígeno se conocen bien en la técnica e incluyen, por ejemplo, diálisis de equilibrio, resonancia del plasmón de superficie, y similares. Por ejemplo, un anticuerpo que “se une específicamente” a IL-4R, como se usa en el contexto de la presente descripción, incluye anticuerpos que se unen a IL-4R o parte del mismo con una K_D de menos de aproximadamente 1000 nM, menos de aproximadamente 500 nM, menos de aproximadamente 300 nM, menos de aproximadamente 200 nM, menos de aproximadamente 100 nM, menos de aproximadamente 90 nM, menos de aproximadamente 80 nM, menos de aproximadamente 70 nM, menos de aproximadamente 60 nM, menos de aproximadamente 50 nM, menos de aproximadamente 40 nM, menos de aproximadamente 30 nM, menos de aproximadamente 20 nM, menos de aproximadamente 10 nM, menos de aproximadamente 5 nM, menos que aproximadamente 4 nM, menos de aproximadamente 3 nM, menos de aproximadamente 2 nM, menos de aproximadamente 1 nM, o menos de aproximadamente 0,5 nM, como se mide en un ensayo de resonancia del plasmón de superficie. Un anticuerpo aislado que se une específicamente al IL-4R humano puede, sin embargo, tener reactividad cruzada con otros antígenos, tales como moléculas IL-4R de otras especies (no humanas).

Los anticuerpos anti-IL-4R útiles para los métodos de la presente descripción pueden comprender una o más sustituciones, inserciones y/o eliminaciones de aminoácidos (p.ej. 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 sustituciones y/o 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 inserciones y/o 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 eliminaciones) en las regiones marco y/o CDR de los dominios variables de la cadena pesada y ligera en comparación con las correspondientes secuencias de línea

germinal de la que se derivaron los anticuerpos. Dichas mutaciones pueden verificarse fácilmente comparando las secuencias de aminoácidos descritas en la presente memoria con las secuencias de línea germinal disponibles desde, por ejemplo, bases de datos públicas de secuencias de anticuerpos. La presente descripción incluye métodos que implican el uso de anticuerpos, y fragmentos de unión al antígeno de los mismos, que se derivan de cualquiera de las secuencias de aminoácidos descritas en la presente memoria, en los que uno o más aminoácidos (p.ej. 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 aminoácidos) en una o más regiones marco y/o una o más (p.ej. 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 o 12 con respecto al anticuerpo tetramérico o 1, 2, 3, 4, 5 o 6 con respecto al HCVR y LCVR de un anticuerpo) regiones CDR se mutan al (a los) correspondiente(s) residuo(s) de la secuencia de línea germinal de la que se deriva el anticuerpo, o al (a los) correspondiente(s) residuo(s) de otra secuencia de línea germinal humana, o a una sustitución de aminoácidos conservadora del (de los) residuo(s) de la línea germinal correspondiente (dichos cambios de secuencia se denominan en la presente memoria de forma colectiva como "mutaciones de la línea germinal"). Un experto en la técnica, empezando con las secuencias de la región variable de la cadena pesada y ligera descritas en la presente memoria, puede producir fácilmente numerosos anticuerpos y fragmentos de unión al antígeno que comprenden una o más mutaciones de la línea germinal individual o combinaciones de las mismas. En ciertas realizaciones, todos los residuos del marco y/o CDR en los dominios V_H y/o V_L se mutan de nuevo a los residuos encontrados en la secuencia de línea germinal original de la que se derivó el anticuerpo. En otras realizaciones, solo ciertos residuos se mutan de nuevo a la secuencia de línea germinal original, p.ej., solo los residuos mutados encontrados en los primeros 8 aminoácidos de FR1 o en los últimos 8 aminoácidos de FR4, o solo los residuos mutados encontrados en CDR1, CDR2 o CDR3. En otras realizaciones, uno o más del (de los) residuo(s) del marco y/o CDR se mutan al (a los) correspondiente(s) residuo(s) de una secuencia de línea germinal diferente (es decir, una secuencia de línea germinal que es diferente de la secuencia de línea germinal de la que el anticuerpo se derivó originalmente). Además, los anticuerpos de la presente descripción pueden contener cualquier combinación de dos o más mutaciones de línea germinal en las regiones marco y/o CDR, p.ej., en los que ciertos residuos individuales se mutan al correspondiente residuo de una secuencia de línea germinal particular mientras ciertos residuos distintos que difieren de la secuencia de línea germinal original se mantienen o se mutan al correspondiente residuo de una secuencia de línea germinal diferente. Una vez obtenidos, los anticuerpos y fragmentos de unión al antígeno que contienen una o más mutaciones de la línea germinal pueden probarse fácilmente para una o más propiedades deseadas tal como, especificidad de unión mejorada, afinidad de unión aumentada, propiedades biológicas antagonistas o agonistas mejoradas o potenciadas (según sea el caso), inmunogenicidad reducida, etc. El uso de anticuerpos y fragmentos de unión al antígeno obtenidos de esta manera general se incluyen en la presente descripción.

La presente descripción también incluye métodos que implican el uso de anticuerpos anti-IL-4R que comprenden variantes de cualquiera de las secuencias de aminoácidos de HCVR, LCVR y/o CDR descritas en la presente memoria que tienen una o más sustituciones conservadoras. Por ejemplo, la presente descripción incluye el uso de anticuerpos anti-IL-4R que tienen secuencias de aminoácidos de HCVR, LCVR y/o CDR con, p.ej., 10 o menos, 8 o menos, 6 o menos, 4 o menos, etc. sustituciones de aminoácidos conservadoras respecto a cualquiera de las secuencias de aminoácidos de HCVR, LCVR y/o CDR descritas en la presente memoria.

El término "resonancia de plasmón de superficie" se refiere a un fenómeno óptico que permite el análisis de interacciones a tiempo real por detección de alteraciones en las concentraciones de proteína en una matriz biosensora, por ejemplo, usando el sistema BIAcore™ (Biacore Life Sciences división of GE Healthcare, Piscataway, NJ).

El término " K_D " se refiere a la constante de disociación en equilibrio de una interacción anticuerpo-antígeno particular.

El término "epítipo" se refiere a un determinante antigénico que interactúa con un sitio de unión al antígeno específico en la región variable de una molécula de anticuerpo conocida como un paratopo. Un único antígeno puede tener más de un epítipo. Por consiguiente, diferentes anticuerpos pueden unirse a diferentes áreas en un antígeno y pueden tener diferentes efectos biológicos. Los epítopos pueden ser o bien conformacionales o bien lineales. Un epítipo conformacional se produce mediante aminoácidos yuxtapuestos espacialmente de diferentes segmentos de la cadena polipeptídica lineal. Un epítipo lineal es uno producido por residuos de aminoácidos adyacentes en una cadena polipeptídica. En ciertas circunstancias, un epítipo puede incluir restos de sacáridos, grupos fosforilo, o grupos sulfonilo en el antígeno.

Preparación de anticuerpos humanos

Los métodos para generar anticuerpos humanos en ratones transgénicos se conocen en la técnica. Cualquiera de dichos métodos conocidos puede usarse en el contexto de la presente descripción para hacer anticuerpos humanos que se unan específicamente al IL-4R humano.

Usando la tecnología VELOCIMMUNE™ (véase, por ejemplo, el documento US 6.596.541, Regeneron Pharmaceuticals) o cualquier otro método conocido para generar anticuerpos monoclonales, se aíslan inicialmente anticuerpos quiméricos de alta afinidad con IL-4R que tienen una región variable humana y una región constante de ratón. La tecnología VELOCIMMUNE® implica la generación de un ratón transgénico que tiene un genoma que comprende regiones variables de cadena pesada y ligera humanas unidas de forma operable a sitios de la región

constante de ratón endógena de manera que el ratón produce un anticuerpo que comprende una región variable humana y una región constante de ratón en respuesta a la estimulación antigénica. El ADN que codifica las regiones variables de las cadenas pesada y ligera del anticuerpo se aísla y se unen de forma operable al ADN que codifica las regiones constantes de las cadenas pesada y ligera humanas. El ADN se expresa entonces en una célula capaz de expresar el anticuerpo completamente humano.

Generalmente, un ratón VELOCIMMUNE® se prueba con el antígeno de interés, y las células linfáticas (tal como células B) se recuperan de los ratones que expresan anticuerpos. Las células linfáticas pueden fusionarse con una línea celular de mieloma para preparar líneas celulares hibridomas inmortales, y dichas líneas celulares hibridomas se criban y seleccionan para identificar las líneas celulares hibridomas que producen anticuerpos específicos al antígeno de interés. El ADN que codifica las regiones variables de la cadena pesada y la cadena ligera puede aislarse y unirse a las regiones constantes isotípicas deseables de la cadena pesada y la cadena ligera. Dicha proteína de anticuerpo puede producirse en una célula, tal como una célula CHO.

De forma alternativa, el ADN que codifica los anticuerpos quiméricos específicos del antígeno o los dominios variables de las cadenas ligera y pesada puede aislarse directamente desde los linfocitos específicos del antígeno.

Inicialmente, se aíslan anticuerpos quiméricos de alta afinidad que tienen una región variable humana y una región constante de ratón. Los anticuerpos se caracterizan y se seleccionan por características deseables, que incluyen afinidad, selectividad, epitopo, etc., usando procedimientos estándar conocidos por los expertos en la técnica. Las regiones constantes de ratón se sustituyen con una región constante humana deseada para generar un anticuerpo completamente humano caracterizado en la presente descripción, por ejemplo, IgG1 o IgG4 de tipo salvaje o modificado. Aunque la región constante seleccionada puede variar según el uso específico, las características de unión al antígeno de alta afinidad y especificidad al objetivo residen en la región variable.

En general, los anticuerpos que pueden usarse en los métodos de la presente descripción poseen altas afinidades, como se describe anteriormente, cuando se miden por unión al antígeno o bien inmovilizado en fase sólida o en fase de disolución. Las regiones constantes de ratón se sustituyen con regiones constantes humanas deseadas para generar los anticuerpos completamente humanos caracterizados en la presente descripción. Aunque la región constante seleccionada puede variar según el uso específico, las características de unión al antígeno de alta afinidad y especificidad al objetivo residen en la región variable.

Ejemplos específicos de anticuerpos humanos o fragmentos de unión al antígeno de anticuerpos que se unen específicamente a IL-4R que pueden usarse en el contexto de los métodos de la presente descripción incluyen cualquier anticuerpo o fragmento de unión al antígeno que comprende los tres CDRs de la cadena pesada (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) contenidos en una región variable de la cadena pesada (HCVR) que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 2, 18, 22, 26, 42, 46, 50, 66, 70, 74, 90, 94, 98, 114, 118, 122, 138, 142, 146, 162, 166, 170, 186, 190, 194, 210, 214, 218, 234, 238, 242, 258 y 262. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno puede comprender los tres CDRs de la cadena ligera (LCVR1, LCVR2, LCVR3) contenidos en la región variable de la cadena ligera (LCVR) que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 10, 20, 24, 34, 44, 48, 58, 68, 72, 82, 92, 96, 106, 116, 120, 130, 140, 144, 154, 164, 168, 178, 188, 192, 202, 212, 216, 226, 236, 240, 250, 260 y 264. Los métodos y técnicas para identificar CDRs en secuencias de aminoácidos de HCVR y LCVR son bien conocidos en la técnica y pueden usarse para identificar CDRs en las secuencias de aminoácidos de HCVR y/o LCVR especificadas descritas en la presente memoria. Las convenciones ejemplares que pueden usarse para identificar los límites de los CDRs incluyen, p.ej., la definición Kabat, la definición Chothia, y la definición AbM. En términos generales, la definición Kabat se basa en la variabilidad de secuencia, la definición Chothia se basa en la posición de las regiones en bucle estructurales, y la definición AbM es un compromiso entre los enfoques Kabat y Chothia. Véase, p.ej., Kabat, "Sequences of Proteins of Immunological Interest", Institutos nacionales de la salud, Bethesda, Md. (1991); Al-Lazikani et al., *J. Mol. Biol.* 273:927-948 (1997); y Martin et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86:9268-9272 (1989). Las bases de datos públicas también están disponibles para identificar secuencias de CDR en un anticuerpo.

En ciertas realizaciones de la presente descripción, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo comprende los seis CDRs (HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 y LCDR3) procedentes de los pares de secuencia de aminoácidos de la región variable de la cadena pesada y ligera (HCVR/LCVR) seleccionados del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 2/10, 18/20, 22/24, 26/34, 42/44, 46/48, 50/58, 66/68, 70/72, 74/82, 90/92, 94/96, 98/106, 114/116, 118/120, 122/130, 138/140, 142/144, 146/154, 162/164, 166/168, 170/178, 186/188, 190/192, 194/202, 210/212, 214/216, 218/226, 234/236, 238/240, 242/250, 258/260 y 262/264.

En ciertas realizaciones de la presente descripción, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo comprende seis CDRs (HCDR1/HCDR2/HCDR3/LCDR1/LCDR2/LCDR3) que tienen las secuencias de aminoácidos seleccionadas del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 4/6/8/12/14/16; 28/30/32/36/38/40; 52/54/56/60/62/64; 76/78/80/84/86/88; 100/102/104/108/110/112; 124/126/128/132/134/136; 148/150/152/156/158/160; 172/174/176/180/182/184; 196/198/200/204/206/208; 220/222/224/228/230/232; y 244/246/248/252/254/256.

En ciertas realizaciones de la presente descripción, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo comprende pares de secuencias de aminoácidos HCVR/LCVR seleccionados del grupo que consiste en SEQ ID

NOs: 2/10, 18/20, 22/24, 26/34, 42/44, 46/48, 50/58, 66/68, 70/72, 74/82, 90/92, 94/96, 98/106, 114/116, 118/120, 122/130, 138/140, 142/144, 146/154, 162/164, 166/168, 170/178, 186/188, 190/192, 194/202, 210/212, 214/216, 218/226, 234/236, 238/240, 242/250, 258/260 y 262/264.

Composiciones farmacéuticas

- 5 La presente descripción incluye métodos que comprenden administrar un antagonista de IL-4R a un paciente, en el que el antagonista de IL-4R está contenido en una composición farmacéutica. Las composiciones farmacéuticas caracterizadas en la invención se formulan con vehículos, excipientes, y otros agentes adecuados que proporcionan transferencia, distribución, tolerancia, y similares, adecuadas. Una multitud de formulaciones apropiadas pueden encontrarse en la colección de documentos conocida por todos los farmacéuticos: Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, PA. Estas formulaciones incluyen, por ejemplo, polvos, pastas, pomadas, vaselinas, ceras, aceites, lípidos, vesículas que contienen lípidos (catiónicos o aniónicos) (tal como LIPOFECTIN™), conjugados de ADN, pastas de absorción anhidra, emulsiones de aceite en agua y agua en aceite, emulsiones de carbowax (polietilenglicoles de varios pesos moleculares), geles semi-sólidos, y mezclas semi-sólidas que contienen carbowax. Véase también Powell et al. "Compendium of excipients for parenteral formulations" PDA (1998) J Pharm Sci Technol 52:238-311.

- La dosis de anticuerpo administrada a un paciente según los métodos de la presente descripción pueden variar dependiendo de la edad y la talla del paciente, síntomas, condiciones, ruta de administración y similares. La dosis preferida se calcula típicamente según el peso corporal o área de superficie corporal. Dependiendo de la gravedad de la condición, pueden ajustarse la frecuencia y la duración del tratamiento. Las dosis efectivas y calendarios para administrar las composiciones farmacéuticas que comprenden anticuerpos anti-IL-4R pueden determinarse empíricamente; por ejemplo, el progreso del paciente puede monitorizarse mediante evaluación periódica, y la dosis ajustarse como corresponda. Además, el escalado de dosis inter-especies puede realizarse usando métodos bien conocidos en la técnica (p.ej., Mordenti et al., 1991, *Pharmaceut. Res.* 8:1351).

- Se conocen varios sistemas de distribución y pueden usarse para administrar las composiciones farmacéuticas caracterizadas en la invención, p.ej., encapsulado en liposomas, micropartículas, microcápsulas, células recombinantes capaces de expresar los virus mutantes, endocitosis mediada por un receptor (véase, p.ej., Wu et al., 1987, J. Biol. Chem. 262:4429-4432). Los métodos de administración incluyen, aunque no están limitados, a rutas intradérmica, intramuscular, intraperitoneal, intravenosa, subcutánea, intranasal, intra-traqueal, epidural y oral. La composición puede administrarse por cualquier ruta conveniente, por ejemplo, por infusión o inyección de bolo, por absorción a través de revestimientos epiteliales o mucocutáneos (p.ej., mucosa oral, mucosa rectal e intestinal, etc.) y pueden administrarse junto con otros agentes biológicamente activos.

- Una composición farmacéutica de la invención puede distribuirse de forma subcutánea o intravenosa con una aguja y jeringa estándar. Además, con respecto a la distribución subcutánea, un dispositivo de distribución tipo pluma es fácil de aplicar en la distribución de una composición farmacéutica de la invención. Dicho dispositivo de distribución tipo pluma puede ser reutilizable o desechable. Un dispositivo de distribución tipo pluma reutilizable generalmente utiliza un cartucho sustituible que contiene una composición farmacéutica. Una vez que toda la composición farmacéutica en el cartucho se ha administrado y el cartucho está vacío, el cartucho vacío puede tirarse fácilmente y sustituirse con un nuevo cartucho que contiene la composición farmacéutica. El dispositivo de distribución tipo pluma puede entonces reutilizarse. En un dispositivo de distribución tipo pluma desechable, no hay cartucho sustituible. Más bien, el dispositivo de distribución tipo pluma desechable viene pre-relleno con la composición farmacéutica contenida en un depósito dentro del dispositivo. Una vez que el depósito está vacío de la composición farmacéutica, todo el dispositivo se tira.

- Numerosos dispositivos de distribución tipo pluma y autoinyectores reutilizables tienen aplicaciones en la distribución subcutánea de una composición farmacéutica de la invención. Los ejemplos incluyen, aunque no están limitados a AUTOPEN™ (Owen Mumford, Inc., Woodstock, RU), pluma DISETRONIC™ (Disetronic Medical Systems, Bergdorf, Suiza), pluma HUMALOG MIX 75/25™, pluma HUMALOG™, pluma HUMALIN 70/30™ (Eli Lilly and Co., Indianápolis, IN), NOVOPEN™ I, II y III (Novo Nordisk, Copenhagen, Dinamarca), NOVOPEN JUNIOR™ (Novo Nordisk, Copenhagen, Dinamarca), pluma BD™ (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ), OPTIPEN™, OPTIPEN PRO™, OPTIPEN STARLET™, y OPTICLIK™ (Sanofi-Aventis, Frankfurt, Alemania), por nombrar solo unos pocos. Ejemplos de dispositivos de distribución de pluma desechable que tienen aplicaciones en la distribución subcutánea de una composición farmacéutica de la presente invención incluyen, aunque no están limitados a la pluma SOLOSTAR™ (Sanofi-Aventis), la FLEXPEN™ (Novo Nordisk), y la KWIKPEN™ (Eli Lilly), el Autoinyector SURECLICK™ (Amgen, Thousand Oaks, CA), el PENLET™ (Haselmeier, Stuttgart, Alemania), el EPIPEN (Dey, L.P.), y la pluma HUMIRA™ (Abbott Labs, Abbott Park IL), por nombrar solo unos pocos.

- Para la administración directa a los senos, las composiciones farmacéuticas de la invención pueden administrarse usando, p.ej., un microcatéter (p.ej., un endoscopio y microcatéter), un aerosolizador, un dispensador de polvo, un nebulizador o un inhalador. Los métodos incluyen la administración de un antagonista de IL-4R a un sujeto que lo necesita, en una formulación aerosolizada. Por ejemplo, pueden administrarse anticuerpos aerosolizados a IL-4R para tratar el asma en un paciente. Los anticuerpos aerosolizados pueden prepararse como se describe en, por ejemplo, el documento US8178098.

En ciertas situaciones, la composición farmacéutica puede distribuirse en un sistema de liberación controlada. En una realización, puede usarse una bomba (véase Langer, supra; Sefton, 1987, CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 14:201). En otra realización, pueden usarse materiales poliméricos; véase Medical Applications of Controlled Release, Langer and Wise (eds.), 1974, CRC Pres., Boca Ratón, Florida. En aún otra realización, un sistema de liberación controlada puede colocarse en la proximidad del objetivo de la composición, necesitando por consiguiente solo una fracción de la dosis sistémica (véase, p.ej., Goodson, 1984, en Medical Applications of Controlled Release, supra, vol. 2, págs. 115-138). Otros sistemas de liberación controlada se tratan en la revisión por Langer, 1990, Science 249:1527-1533.

Los preparados inyectables pueden incluir formas de dosificación para inyecciones intravenosas, subcutáneas, intracutáneas e intramusculares, infusiones por goteo, etc. Estos preparados inyectables pueden prepararse por métodos conocidos. Por ejemplo, los preparados inyectables pueden prepararse, p.ej., disolviendo, suspendiendo o emulsionando el anticuerpo o su sal descrita anteriormente en un medio acuoso estéril o un medio oleoso usado convencionalmente para inyecciones. Como el medio acuoso para inyecciones, hay, por ejemplo, solución salina fisiológica, una disolución isotónica que contiene glucosa y otros agentes auxiliares, etc., que pueden usarse en combinación con un agente de solubilización apropiado tal como un alcohol, (p.ej., etanol), un polialcohol (p.ej., propilenglicol, polietilenglicol), un tensioactivo no iónico [p.ej., polisorbato 80, HCO-50 (aducto de polioxietileno (50 mol) de aceite de ricino hidrogenado)], etc. Como medio oleoso, se emplean, p.ej., aceite de sésamo, aceite de soja, etc., que puede usarse en combinación con un agente de solubilización tal como benzoato de bencilo, alcohol bencílico, etc. La inyección así preparada se llena preferiblemente en una ampolla apropiada.

De forma ventajosa, las composiciones farmacéuticas para el uso oral o parenteral descrito anteriormente se preparan en formas de dosificación en una dosis unitaria adaptada para encajar una dosis de los ingredientes activos. Dichas formas de dosificación en una dosis unitaria incluyen, por ejemplo, comprimidos, píldoras, cápsulas, inyecciones (ampollas), supositorios, etc.

Composiciones farmacéuticas ejemplares que comprenden un anticuerpo anti-IL-4R que puede usarse en el contexto de la invención se describen, p.ej., en la Publicación de Solicitud de Patente de EE.UU. núm. 2012/0097565.

Dosis

La cantidad de antagonista de IL-4R (p.ej., anticuerpo anti-IL-4R) administrado a un sujeto según los métodos de la presente descripción es, generalmente, una cantidad terapéuticamente efectiva. Como se usa en la presente memoria, la frase "cantidad terapéuticamente efectiva" significa una cantidad de antagonista de IL-4R que da por resultado uno o más de: (a) una reducción en la incidencia de exacerbaciones asmáticas; (b) una mejora en uno o más parámetros asociados con asma (como se define en alguna parte de la presente memoria); y/o (c) una mejora detectable en uno o más síntomas o indicios de una condición inflamatoria de las vías aéreas superiores. Una "cantidad terapéuticamente efectiva" también incluye una cantidad de antagonista de IL-4R que inhibe, evita, disminuye o retrasa la progresión del asma en un sujeto.

En el caso de un anticuerpo anti-IL-4R, una cantidad terapéuticamente efectiva puede ser de aproximadamente 0,05 mg a aproximadamente 600 mg, p.ej., aproximadamente 0,05 mg, aproximadamente 0,1 mg, aproximadamente 1,0 mg, aproximadamente 1,5 mg, aproximadamente 2,0 mg, aproximadamente 3,0 mg, aproximadamente 5,0 mg, aproximadamente 7,0 mg, aproximadamente 10 mg, aproximadamente 20 mg, aproximadamente 30 mg, aproximadamente 40 mg, aproximadamente 50 mg, aproximadamente 60 mg, aproximadamente 70 mg, aproximadamente 80 mg, aproximadamente 90 mg, aproximadamente 100 mg, aproximadamente 110 mg, aproximadamente 120 mg, aproximadamente 130 mg, aproximadamente 140 mg, aproximadamente 150 mg, aproximadamente 160 mg, aproximadamente 170 mg, aproximadamente 180 mg, aproximadamente 190 mg, aproximadamente 200 mg, aproximadamente 210 mg, aproximadamente 220 mg, aproximadamente 230 mg, aproximadamente 240 mg, aproximadamente 250 mg, aproximadamente 260 mg, aproximadamente 270 mg, aproximadamente 280 mg, aproximadamente 290 mg, aproximadamente 300 mg, aproximadamente 310 mg, aproximadamente 320 mg, aproximadamente 330 mg, aproximadamente 340 mg, aproximadamente 350 mg, aproximadamente 360 mg, aproximadamente 370 mg, aproximadamente 380 mg, aproximadamente 390 mg, aproximadamente 400 mg, aproximadamente 410 mg, aproximadamente 420 mg, aproximadamente 430 mg, aproximadamente 440 mg, aproximadamente 450 mg, aproximadamente 460 mg, aproximadamente 470 mg, aproximadamente 480 mg, aproximadamente 490 mg, aproximadamente 500 mg, aproximadamente 510 mg, aproximadamente 520 mg, aproximadamente 530 mg, aproximadamente 540 mg, aproximadamente 550 mg, aproximadamente 560 mg, aproximadamente 570 mg, aproximadamente 580 mg, aproximadamente 590 mg, o aproximadamente 600 mg, del anticuerpo anti-IL-4R. En ciertas realizaciones, se administran 300 mg de anticuerpo anti-IL-4R.

La cantidad de antagonista de IL-4R contenido en las dosis individuales puede expresarse en términos de miligramos de anticuerpo por kilogramo de peso corporal del paciente (es decir, mg/kg). Por ejemplo, el antagonista de IL-4R puede administrarse a un paciente a una dosis de aproximadamente 0,0001 a aproximadamente 10 mg/kg de peso corporal del paciente.

Terapias de combinación

Los métodos de la presente descripción, según ciertas realizaciones, comprenden administrar al sujeto uno o más agentes terapéuticos adicionales en combinación con el antagonista de IL-4R. Como se usa en la presente memoria, la expresión “en combinación con” significa que los agentes terapéuticos adicionales se administran antes, después o simultáneamente con la composición farmacéutica que comprende el antagonista de IL-4R. En algunas realizaciones, el término “en combinación con” incluye la administración secuencial o simultánea de un antagonista de IL-4R y un segundo agente terapéutico. La presente descripción incluye métodos para tratar el asma o una condición o complicación asociada o para reducir al menos una exacerbación, que comprende la administración de un antagonista de IL-4R en combinación con un segundo agente terapéutico para actividad aditiva o sinérgica.

Por ejemplo, cuando se administra “antes” la composición farmacéutica que comprende el antagonista de IL-4R, el agente terapéutico adicional puede administrarse aproximadamente 72 horas, aproximadamente 60 horas, aproximadamente 48 horas, aproximadamente 36 horas, aproximadamente 24 horas, aproximadamente 12 horas, aproximadamente 10 horas, aproximadamente 8 horas, aproximadamente 6 horas, aproximadamente 4 horas, aproximadamente 2 horas, aproximadamente 1 hora, aproximadamente 30 minutos, aproximadamente 15 minutos, o aproximadamente 10 minutos antes de la administración de la composición farmacéutica que comprende el antagonista de IL-4R. Cuando se administra “después” la composición farmacéutica que comprende el antagonista de IL-4R, el agente terapéutico adicional puede administrarse aproximadamente 10 minutos, aproximadamente 15 minutos, aproximadamente 30 minutos, aproximadamente 1 hora, aproximadamente 2 horas, aproximadamente 4 horas, aproximadamente 6 horas, aproximadamente 8 horas, aproximadamente 10 horas, aproximadamente 12 horas, aproximadamente 24 horas, aproximadamente 36 horas, aproximadamente 48 horas, aproximadamente 60 horas, o aproximadamente 72 horas después de la administración de la composición farmacéutica que comprende el antagonista de IL-4R. La administración “simultánea” con la composición farmacéutica que comprende el antagonista de IL-4R significa que el agente terapéutico adicional se administra al sujeto en una forma de dosificación separada a menos de 5 minutos (antes, después, o al mismo tiempo) de la administración de la composición farmacéutica que comprende el antagonista de IL-4R, o se administra al sujeto como una única formulación de dosis combinada que comprende tanto el agente terapéutico adicional como el antagonista de IL-4R.

El agente terapéutico adicional puede ser, p.ej., otro antagonista de IL-4R, un antagonista de IL-1 (que incluye, p.ej., un antagonista de IL-1 como se describe en la Patente de EE.UU. núm. 6.927.044), un antagonista de IL-6, un antagonista de IL-6R (que incluye, p.ej., un anticuerpo anti-IL-6R como se describe en la Patente de EE.UU. núm. 7.582.298), un antagonista de TNF, un antagonista de IL-8, un antagonista de IL-9, un antagonista de IL-17, un antagonista de IL-5, un antagonista de IgE, un antagonista de CD48, un inhibidor de leucotrieno, un agente antifúngico, un AINE, un beta₂ agonista de acción prolongada (p.ej., salmeterol o formoterol), un corticosteroide inhalado (p.ej., fluticasona o budesonida), un corticosteroide sistémico (p.ej., oral o intravenoso), metilxantina, nedocromilo sódico, cromolino sódico o combinaciones de los mismos. Por ejemplo, en ciertas realizaciones, la composición farmacéutica que comprende un antagonista de IL-4R se administra en combinación con una combinación que comprende un beta₂ agonista de acción prolongada y un corticosteroide inhalado (p.ej., fluticasona + salmeterol [p.ej. Advair® (GlaxoSmithKline)]; o budesonida + formoterol [p.ej., Symbicort® (Astra Zeneca)]).

Regímenes de administración

Según ciertas realizaciones de la presente descripción, pueden administrarse a un sujeto múltiples dosis de un antagonista de IL-4R durante un plazo de tiempo definido. Dichos métodos comprenden administrar secuencialmente a un sujeto múltiples dosis de un antagonista de IL-4R. Como se usa en la presente memoria, “administrar secuencialmente” significa que cada dosis de antagonista de IL-4R se administra al sujeto en un diferente punto en el tiempo, p.ej., en días diferentes separados por un intervalo predeterminado (p.ej., horas, días, semanas o meses). La presente descripción incluye métodos que comprenden administrar secuencialmente al paciente una única dosis inicial de un antagonista de IL-4R, seguido por una o más dosis secundarias del antagonista de IL-4R, y opcionalmente seguido por una o más dosis terciarias del antagonista de IL-4R.

La presente descripción incluye métodos que comprenden administrar a un sujeto una composición farmacéutica que comprende un antagonista de IL-4R a una frecuencia de dosis de aproximadamente cuatro veces a la semana, dos veces a la semana, una vez a la semana, una vez cada dos semanas, una vez cada tres semanas, una vez cada cuatro semanas, una vez cada cinco semanas, una vez cada seis semanas, una vez cada ocho semanas, una vez cada doce semanas, o menos frecuentemente mientras se alcance una respuesta terapéutica. En ciertas realizaciones que implican la administración de una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo anti-IL-4R, puede emplearse una dosis de una vez a la semana de una cantidad de aproximadamente 75 mg, 150 mg o 300 mg. En otras realizaciones que implican la administración de una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo anti-IL-4R, puede emplearse una dosificación de una vez cada dos semanas de una cantidad de aproximadamente 75 mg, 150 mg o 300 mg. En otras realizaciones que implican la administración de una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo anti-IL-4R, puede emplearse una dosificación de una vez cada tres semanas de una cantidad de aproximadamente 75 mg, 150 mg o 300 mg. En otras realizaciones que implican la administración de una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo anti-IL-4R, puede emplearse una dosificación de una vez cada cuatro semanas de una cantidad de aproximadamente 75 mg, 150 mg o 300 mg. En otras realizaciones que implican la administración de una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo anti-IL-4R, puede emplearse una dosificación de una vez cada cinco semanas de una cantidad de aproximadamente 75 mg, 150 mg o 300 mg. En otras realizaciones que implican la administración de una

composición farmacéutica que comprende un anticuerpo anti-IL-4R, puede emplearse una dosificación de una vez cada seis semanas de una cantidad de aproximadamente 75 mg, 150 mg o 300 mg. En otras realizaciones que implican la administración de una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo anti-IL-4R, puede emplearse una dosificación de una vez cada ocho semanas de una cantidad de aproximadamente 75 mg, 150 mg o 300 mg. En otras realizaciones que implican la administración de una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo anti-IL-4R, puede emplearse una dosificación de una vez cada doce semanas de una cantidad de aproximadamente 75 mg, 150 mg o 300 mg. Una ruta preferida de administración es subcutánea.

El término “semana” o “semanas” se refiere a un periodo de $(n \times 7 \text{ días}) \pm 2 \text{ días}$, preferiblemente $(n \times 7 \text{ días}) \pm 1 \text{ día}$, más preferiblemente $(n \times 7 \text{ días})$, en el que “n” designa el número de semanas, p.ej., 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 12 o más.

Los términos “dosis inicial”, “dosis secundarias” y “dosis terciarias”, se refieren a la secuencia temporal de administración del antagonista de IL-4R. Por consiguiente, la “dosis inicial” es la dosis que se administra al comienzo del régimen de tratamiento (también denominada como la “dosis de referencia”); las “dosis secundarias” son las dosis que se administran después de la dosis inicial; y las “dosis terciarias” son las dosis que se administran después de las dosis secundarias. Las dosis inicial, secundaria y terciaria pueden contener la misma cantidad de antagonista de IL-4R, pero generalmente difieren las unas de las otras en términos de frecuencia de administración. En ciertas realizaciones, sin embargo, la cantidad de antagonista de IL-4R contenida en la dosis inicial, secundaria y/o terciaria varía de las unas a las otras (p.ej., ajustadas arriba o abajo según sea apropiado) durante el tratamiento. En ciertas realizaciones, dos o más (p.ej., 2, 3, 4 o 5) dosis se administran al comienzo del régimen de tratamiento como “dosis de carga” seguidas por dosis posteriores que se administran a una menor base de frecuencia (p.ej., “dosis de mantenimiento”). En una realización, la dosis de mantenimiento puede ser menor que la dosis de carga. Por ejemplo, una o más dosis de carga de 600 mg de antagonista de IL-4R pueden administrarse seguidas por dosis de mantenimiento de aproximadamente 75 mg a aproximadamente 300 mg.

En una realización ejemplar de la presente descripción, cada dosis secundaria y/o terciaria se administra 1 a 14 (p.ej., 1, 1½, 2, 2½, 3, 3½, 4, 4½, 5, 5½, 6, 6½, 7, 7½, 8, 8½, 9, 9½, 10, 10½, 11, 11½, 12, 12½, 13, 13½, 14, 14½ o más) semanas después de la dosis inmediatamente anterior. La frase “la dosis inmediatamente anterior” significa, en una secuencia de múltiples administraciones, la dosis de antagonista de IL-4R que se administra a un paciente antes de la administración de la dosis siguiente en la secuencia sin dosis intermedias.

Los métodos pueden comprender administrar a un paciente cualquier número de dosis secundarias y/o terciarias de un antagonista de IL-4R. Por ejemplo, en ciertas realizaciones, solo se administra una única dosis secundaria al paciente. En otras realizaciones, dos o más (p.ej., 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 o más) dosis secundarias se administran al paciente. Asimismo, en ciertas realizaciones, solo se administra una única dosis terciaria al paciente. En otras realizaciones, dos o más (p.ej. 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 o más) dosis terciarias se administran al paciente.

En realizaciones que implican múltiples dosis secundarias, cada dosis secundaria puede administrarse a la misma frecuencia que las demás dosis secundarias. Por ejemplo, cada dosis secundaria puede administrarse al paciente 1 a 2 semanas después de la dosis inmediatamente anterior. De forma similar, en realizaciones que implican múltiples dosis terciarias, cada dosis terciaria puede administrarse a la misma frecuencia que las demás dosis terciarias. Por ejemplo, cada dosis terciaria puede administrarse al paciente 2 a 4 semanas después de la dosis inmediatamente anterior. De forma alternativa, la frecuencia a la que las dosis secundarias y/o terciarias se administran a un paciente puede variar durante el régimen de tratamiento. La frecuencia de administración puede ajustarse también durante el tratamiento por un médico dependiendo de las necesidades individuales del paciente después de un examen clínico.

La presente descripción incluye métodos que comprenden la administración secuencial de un antagonista de IL-4R y un segundo agente terapéutico, a un paciente para tratar asma o una condición asociada. En algunas realizaciones, los métodos comprenden administrar una o más dosis de un antagonista de IL-4R seguido de una o más dosis (p.ej., 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 o más) de un segundo agente terapéutico. Por ejemplo, puede administrarse una o más dosis de aproximadamente 75 mg a aproximadamente 300 mg del antagonista de IL-4R después de lo cual pueden administrarse una o más dosis (p.ej., 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 o más) de un segundo agente terapéutico (p.ej., un corticosteroide inhalado o un beta2-agonista o cualquier otro agente terapéutico, como se describe en otro lugar en la presente memoria) para tratar, aliviar, reducir o mejorar uno más síntomas del asma. En algunas realizaciones, el antagonista de IL-4R se administra a una o más dosis (p.ej., 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 o más) dando por resultado una mejora en uno o más parámetros asociados con asma seguido por la administración de un segundo agente terapéutico para evitar la recurrencia de al menos un síntoma del asma. Las realizaciones alternativas forman parte de la administración simultánea de un antagonista de IL-4R y un segundo agente terapéutico. Por ejemplo, se administran una o más dosis (p.ej., 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 o más) de un antagonista de IL-4R y se administra un segundo agente terapéutico a una dosis separada a una frecuencia similar o diferente respecto al antagonista de IL-4R. En algunas realizaciones, el segundo agente terapéutico se administra antes, después o simultáneamente con el antagonista de IL-4R.

Poblaciones de tratamiento

Los métodos de la presente descripción comprenden administrar a un sujeto que lo necesita una composición terapéutica que comprende un antagonista de IL-4R. La expresión “un sujeto que lo necesita” significa un animal

humano o no humano que muestra uno o más síntomas o indicios de asma (p.ej., asma eosinófila, que incluye asma eosinófila de moderada a severa), o quien haya sido diagnosticado con asma. Por ejemplo, “un sujeto que lo necesita” puede incluir, p.ej., sujetos que, antes del tratamiento, muestran (o han mostrado) uno o más parámetros asociados con asma tal como, p.ej., FEV1 alterado (p.ej., menos de 2,0 L), AM PEF alterado (p.ej., menos de 400 L/min), PM PEF alterado (p.ej., menos de 400 L/min), una puntuación de ACQ5 de al menos 2,5, al menos 1 despertar nocturno por noche, y/o una puntuación de SNOT-22 de al menos 20. En varias realizaciones, los métodos pueden usarse para tratar asma suave, de moderada a severa, y severa en pacientes que lo necesitan.

En una realización relacionada, un “sujeto que lo necesita” puede ser un sujeto que, antes de recibir un antagonista de IL-4R, se le había recetado o está tomando actualmente una combinación de corticosteroides inhalados (ICS)/antagonista beta₂-adrenérgico de acción prolongada (LABA). Ejemplos de terapias de ICS/LABA incluyen terapia de combinación de fluticasona/salmeterol y terapia de combinación de budesonida/formoterol. Por ejemplo, la presente descripción incluye métodos que comprenden administrar un antagonista de IL-4R a un paciente que ha estado tomando un tratamiento regular de ICS/LABA durante dos o más semanas inmediatamente antes a la administración del antagonista de IL-4R (dichos tratamientos anteriores se denominan en la presente memoria como “tratamientos de base”). La presente descripción incluye métodos terapéuticos en que los tratamientos de base se interrumpen en el momento de, o justo antes de (p.ej., 1 día a 2 semanas antes de) la primera administración del antagonista de IL-4R. De forma alternativa, los tratamientos de base pueden continuarse en combinación con la administración del antagonista de IL-4R. En aún otras realizaciones, la cantidad del componente ICS, el componente LABA o ambos, se disminuye gradualmente antes de o después del comienzo de la administración del antagonista de IL-4R. En algunas realizaciones, la presente descripción incluye métodos para tratar pacientes con asma persistente durante al menos ≥12 meses. En una realización, un paciente con asma persistente puede ser resistente al tratamiento mediante un agente terapéutico, tal como un corticosteroide, y se le puede administrar un antagonista de IL-4R según los presentes métodos.

En algunas realizaciones, un “sujeto que lo necesita” puede ser un sujeto con niveles elevados de un biomarcador asociado con el asma. Ejemplos de biomarcadores asociados con asma incluyen, aunque no están limitados a, IgE, quimiocina regulada por timo y activación (TARC), eotaxina-3, CEA, YKL-40 y periostina. En algunas realizaciones, un “sujeto que lo necesita” puede ser un sujeto con ≥ 300/μl de eosinófilos en sangre o con un nivel de eosinófilos en el esputo de ≥3%. En una realización, un “sujeto que lo necesita” puede ser un sujeto con un nivel elevado de inflamación bronquial o de las vías aéreas como se mide por la fracción de óxido nítrico exhalado (FeNO).

Por propósitos de la invención, un nivel de IgE normal en sujetos sanos es menor que aproximadamente 100 kU/L (p.ej., como se mide usando el ensayo ImmunoCAP® [Phadia, Inc. Portage, MI]). Por consiguiente, la presente descripción implica métodos que comprenden seleccionar un sujeto que muestra un elevado nivel de IgE en suero, que es un nivel de IgE en suero mayor que aproximadamente 100 kU/L, mayor que aproximadamente 150 kU/L, mayor que aproximadamente 500 kU/L, mayor que aproximadamente 1000 kU/L, mayor que aproximadamente 1500 kU/L, mayor que aproximadamente 2000 kU/L, mayor que aproximadamente 2500 kU/L, mayor que aproximadamente 3000 kU/L, mayor que aproximadamente 3500 kU/L, mayor que aproximadamente 4000 kU/L, mayor que aproximadamente 4500 kU/L, o mayor que aproximadamente 5000 kU/L, y administrar al sujeto una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de un antagonista de IL-4R.

Los niveles de TARC en sujetos sanos están en el intervalo de 106 ng/L a 431 ng/L, con una media de aproximadamente 239 ng/L. (Un sistema de ensayo ejemplar para medir el nivel de TARC es el kit ELISA cuantitativo de TARC ofrecido como Núm. Cat. DDN00 por R&D Systems, Minneapolis, MN). Por consiguiente, la presente descripción implica métodos que comprenden seleccionar un sujeto que muestra un nivel TARC elevado, que es un nivel TARC en suero mayor que aproximadamente 431 ng/L, mayor que aproximadamente 500 ng/L, mayor que aproximadamente 1000 ng/L, mayor que aproximadamente 1500 ng/L, mayor que aproximadamente 2000 ng/L, mayor que aproximadamente 2500 ng/L, mayor que aproximadamente 3000 ng/L, mayor que aproximadamente 3500 ng/L, mayor que aproximadamente 4000 ng/L, mayor que aproximadamente 4500 ng/L, o mayor que aproximadamente 5000 ng/L, y administrar al sujeto una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de un antagonista de IL-4R.

La eotaxina-3 pertenece a un grupo de quimiocinas liberadas pro las células epiteliales de las vías aéreas, que está sobre-regulada por las citoquinas Th2 IL-4 e IL-13 (Lilly et al 1999, J.Allergy Clin. Immunol. 104:786-790). La presente descripción incluye métodos que comprenden administrar un antagonista de IL-4R para tratar pacientes con elevados niveles de eotaxina-3, tal como más de aproximadamente 100 pg/ml, más de aproximadamente 150 pg/ml, más de aproximadamente 200 pg/ml, más de aproximadamente 300 pg/ml, o más de aproximadamente 350 pg/ml. Los niveles de eotaxina-3 en suero pueden medirse, por ejemplo, por ELISA.

La periostina es una proteína de matriz extracelular implicada en los procesos inflamatorios mediados por Th2. Los niveles de periostina se encuentran que están sobre-regulados en pacientes con asma (Jia et al 2012 J Allergy –Clin Immunol. 130:647-654.e10.doi: 10.1016/j.jaci.2012.06.025.Epub 1 de agosto de 2012). La presente descripción incluye métodos que comprenden administrar un antagonista de IL-4R para tratar pacientes con elevadas dosis de periostina.

El NO exhalado fraccionado (FeNO) es un biomarcador de inflamación bronquial o de vías aéreas. El FeNO se produce por las células epiteliales de las vías aéreas en respuesta a citoquinas inflamatorias que incluyen IL-4 e IL-13 (Alwing et al 1993, Eur. Respir. J. 6:1368-1370). Los niveles de FeNO en adultos sanos oscilan de 2 a 30 partes por billón (ppb). Un ensayo ejemplar para medir FeNO es usando un instrumento NIOX de Aerocrine AB, Solna, Suecia. La evaluación puede realizarse ante de la espirometría y después de un ayuno de al menos una hora. La presente descripción incluye métodos que comprenden administrar un antagonista de IL-4R a pacientes con elevados niveles de NO exhalado (FeNO), tal como más de aproximadamente 30 ppb, más de aproximadamente 31 ppb, más de aproximadamente 32 ppb, más de aproximadamente 33 ppb, más de aproximadamente 34 ppb, o más de aproximadamente 35 ppb.

El antígeno carcinoembrionario (CEA) es un marcador tumoral que se encuentra correlacionado con enfermedades no neoplásicas del pulmón (Marechal et al 1988, Anticancer Res. 8:677-680). Los niveles de CEA en suero pueden medirse por ELISA. La presente descripción incluye métodos que comprenden administrar un antagonista de IL-4R a pacientes con elevados niveles de CEA, tal como más de aproximadamente 1,0 ng/ml, más de aproximadamente 1,5 ng/ml, más de aproximadamente 2,0 ng/ml, más de aproximadamente 2,5 ng/ml, más de aproximadamente 3,0 ng/ml, más de aproximadamente 4,0 ng/ml, o más de aproximadamente 5,0 ng/ml.

YKL-40 [nombrado por sus aminoácidos N-terminales tirosina (Y), lisina (K) y leucina (L) y su masa molecular de 40kD] es una proteína tipo quitinasa que se encuentra que está sobre-regulada y correlacionada con la exacerbación asmática, IgE y eosinófilos (Tang et al 2010 Eur. Respir. J. 35:757-760). Los niveles de YKL-40 en suero se miden, por ejemplo, por ELISA. La presente descripción incluye métodos que comprenden administrar un antagonista de IL-4R a pacientes con elevados niveles de YKL-40, tal como más de aproximadamente 40 ng/ml, más de aproximadamente 50 ng/ml, más de aproximadamente 100 ng/ml, más de aproximadamente 150 ng/ml, más de aproximadamente 200 ng/ml, o más de aproximadamente 250 ng/ml.

Los eosinófilos y neutrófilos en el esputo inducido son marcadores directos bien establecidos de inflamación de las vías aéreas (Djukanovic et al 2002, Eur. Respir. J. 37:1S-2S). El esputo se induce con inhalación de solución salina hipertónica y se procesa para el conteo celular según los métodos conocidos en la técnica, por ejemplo, las guías de la Sociedad Respiratoria Europea. La presente descripción incluye métodos que comprenden administrar un antagonista de IL-4R a pacientes con elevados niveles de eosinófilos en el esputo, tal como más de aproximadamente 2,5% o más de aproximadamente 3%.

Métodos para evaluar los parámetros farmacodinámicos asociados al asma

La presente descripción también incluye métodos para evaluar uno o más parámetros farmacodinámicos asociados con asma en un sujeto que lo necesita, provocados por la administración de una composición farmacéutica que comprende un antagonista del receptor de interleuquina-4 (IL-4R). Una reducción en la incidencia de una exacerbación asmática (como se describe anteriormente) o una mejora en uno o más parámetros asociados con asma (como se describe anteriormente) pueden correlacionar con una mejora en uno o más parámetros farmacodinámicos asociados con asma; sin embargo, dicha correlación no se observa necesariamente en todos los casos.

Ejemplos de "parámetros farmacodinámicos asociados con asma" incluyen, por ejemplo, lo siguiente: (a) niveles de expresión del biomarcador; (b) análisis de proteína en suero y ARN; (c) niveles de eosinófilos y neutrófilos en esputo inducido; (d) óxido nítrico exhalado (FeNO); y (e) conteo de eosinófilos en sangre. Una "mejora en un parámetro farmacodinámico asociado con asma" significa, por ejemplo, una disminución desde el punto de referencia de uno o más biomarcadores, tal como TARC, eotaxina-3 o IgE, una disminución en los eosinófilos o neutrófilos en el esputo, FeNO, o conteo de eosinófilos en sangre. Como se usa en la presente memoria, el término "punto de referencia", con respecto a un parámetro farmacodinámico asociado con asma, significa el valor numérico del parámetro farmacodinámico asociado con asma para un paciente antes de o en el momento de la administración de una composición farmacéutica caracterizada en la invención.

Para evaluar un parámetro farmacodinámico asociado con asma, el parámetro se cuantifica en el punto de referencia y en el punto temporal después de la administración de la composición farmacéutica de la presente invención. Por ejemplo, un parámetro farmacodinámico asociado con asma puede medirse en el día 1, día 2, día 3, día 4, día 5, día 6, día 7, día 8, día 9, día 10, día 11, día 12, día 14, o a la semana 3, semana 4, semana 5, semana 6, semana 7, semana 8, semana 9, semana 10, semana 11, semana 12, semana 13, semana 14, semana 15, semana 16, semana 17, semana 18, semana 19, semana 20, semana 21, semana 22, semana 23, semana 24 o más, después del tratamiento inicial con una composición farmacéutica de la presente invención. La diferencia entre el valor del parámetro a un punto temporal particular después del inicio del tratamiento y el valor del parámetro en el punto de referencia se usa para establecer si ha habido cambio, tal como una "mejora", en el parámetro farmacodinámico asociado con asma (p.ej., un aumento o disminución, según sea el caso, dependiendo del parámetro específico que se mide).

En ciertas realizaciones, la administración de un antagonista de IL-4R a un paciente provoca un cambio, tal como una disminución o aumento, en la expresión de un biomarcador particular. Los biomarcadores asociados con asma incluyen los siguientes: (a) IgE total; (b) quimiocina regulada por timo y activación (TARC); (c) YKL-40; y (d) antígeno

carcinoembrionario (CEA, también conocido como molécula de adhesión celular a CEA 5 [CEACAM5]) en suero y (e) eotaxina-3 en plasma. Por ejemplo, la administración de un antagonista de IL-4R a un paciente con asma puede provocar una o más de una disminución en los niveles de TARC o eotaxina-3, o una disminución en los niveles totales de IgE en suero. La disminución puede detectarse en la semana 1, semana 2, semana 3, semana 4, semana 5, o más después de la administración del antagonista de IL-4R. La expresión del biomarcador puede ensayarse por métodos conocidos en la técnica. Por ejemplo, los niveles de proteína pueden medirse por ELISA (Ensayo Inmunsorbente Unido a Enzima), o los niveles de ARN pueden medirse por transcripción inversa acoplada a reacción de la cadena polimerasa (RT-PCR).

La expresión del biomarcador, como se trata anteriormente, puede ensayarse por detección de proteína o ARN en suero. Las muestras de suero pueden usarse también para monitorizar biomarcadores de proteína o ARN adicionales relacionados con la respuesta al tratamiento con un antagonista de IL-4R, señalización de IL-4/IL-13, asma, atopía o enfermedades eosinófilas (p.ej., midiendo IL-4Rα soluble, IL-4, IL-13, periostina). En algunas realizaciones, las muestras de ARN se usan para determinar los niveles de ARN (análisis no genéticos), p.ej., niveles de ARN de biomarcadores; y en otras realizaciones, se usan muestras de ARN para la secuenciación del transcriptoma (p.ej., análisis genético).

Ejemplos

Se han hecho esfuerzos para asegurar la exactitud con respecto a los números usados (p.ej., cantidades, temperatura, etc.) aunque deberían considerarse algunos errores experimentales y desviaciones. A menos que se indique otra cosa, las partes son partes en peso, el peso molecular es peso molecular promedio, la temperatura es en grados centígrados, y la presión es atmosférica o casi atmosférica.

Ejemplo 1. Generación de anticuerpos humanos para IL-4R humano

Los anticuerpos anti-hIL-4R humanos se generaron como se describe en la Patente de EE.UU. núm. 7.608.693. La Tabla 1 describe los identificadores de secuencia para los pares de secuencia de aminoácidos de la región variable de la cadena pesada y ligera, y las secuencias de aminoácidos CDR, de anticuerpos anti-IL-4R seleccionados y sus designaciones de anticuerpo correspondientes.

Tabla 1

Designación de anticuerpo	SEQ ID N°s:							
	HCVR	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCVR	LCDR1	LCDR2	LCDR3
H1H095-a	2	4	6	8	10	12	14	16
H1H095-b	18	4	6	8	20	12	14	16
H1H095-c	22	4	6	8	24	12	14	16
H1H097-a	26	28	30	32	34	36	38	40
H1H097-b	42	28	30	32	44	36	38	40
H1H097-c	46	28	30	32	48	36	38	40
H1H093-a	50	52	54	56	58	60	62	64
H1H093-b	66	52	54	56	68	60	62	64
H1H093-c	70	52	54	56	72	60	62	64
H1H093-d	74	76	78	80	82	84	86	88
H1H093-e	90	76	78	80	92	84	86	88
H1H093-f	94	76	78	80	96	84	86	88
H1H094-a	98	100	102	104	106	108	110	112
H1H094-b	114	100	102	104	116	108	110	112
H1H094-c	118	100	102	104	120	108	110	112
H1H096-a	122	124	126	128	130	132	134	136
H1H096-b	138	124	126	128	140	132	134	136
H1H096-c	142	124	126	128	144	132	134	136
H1H098-a	146	148	150	152	154	156	158	160
H1H098-b	162	148	150	152	164	156	158	160
H1H098-c	166	148	150	152	168	156	158	160
H1H099-a	170	172	174	176	178	180	182	184
H1H099-b	186	172	174	176	188	180	182	184
H1H099-c	190	172	174	176	192	180	182	184
H4H083-a	194	196	198	200	202	204	206	208
H4H083-b	210	196	198	200	212	204	206	208
H4H083-c	214	196	198	200	216	204	206	208
H4H121-a	218	220	222	224	226	228	230	232
H4H121-b	234	220	222	224	236	228	230	232
H4H121-c	238	220	222	224	240	228	230	232

H4H118-a	242	244	246	248	250	252	254	256
H4H118-b	258	244	246	248	260	252	254	256
H4H118-c	262	244	246	248	264	252	254	256

El antagonista de IL-4R ejemplar usado en los siguientes Ejemplos es el anticuerpo anti-IL-4R humano designado en la Tabla 1 como H1H098-b (también denominado en la presente memoria como “mAb1”).

- 5 Ejemplo 2: Ensayo clínico del anticuerpo anti-IL-4R (mAb1) administrado de forma subcutánea en pacientes con asma eosinófila persistente de moderada a severa, que incluye pacientes de asma con sinusitis eosinófila hiperplásica crónica.

A. Objetivos del estudio y resumen

10 Un estudio de grupo paralelo, doble ciego, controlado por placebo, aleatorio, se realizó con una administración subcutánea una vez a la semana de o bien 300 mg de mAb1 o placebo durante 12 semanas a pacientes con asma eosinófila persistente de moderada a severa que estaban parcialmente controlados/no controlados mediante terapia de corticosteroides inhalados (ICS) y beta2 agonista de acción prolongada (LABA). El objetivo principal del estudio era investigar los efectos de mAb1 administrado de forma subcutánea una vez a la semana durante 12 semanas mientras se compara con placebo en la reducción de la incidencia de las exacerbaciones asmáticas en pacientes con asma eosinófila persistente de moderada a severa. Los objetivos secundarios del estudio eran evaluar la seguridad y tolerabilidad de mAb1 administrado de forma subcutánea una vez a la semana durante 12 semanas en pacientes con asma eosinófila persistente de moderada a severa, y evaluar las concentraciones en suero de mAb1 después de una dosis subcutánea una vez a la semana durante 12 semanas en pacientes con asma eosinófila persistente de moderada a severa.

20 Antes de la prueba, se pidió a los pacientes que estuvieran con una dosis estable de cualquiera de las siguientes dosis y formulaciones de la terapia de combinación de ICS/LABA (también denominada “terapia de base”) durante al menos 1 mes:

Terapia de combinación de fluticasona/salmeterol

- Advair® Diskus – inhalador de polvo seco (DPI): 250/50 ug dos veces al día o 500/50 ug dos veces al día; o

- Advair® HFA – inhalador de dosis medida (MDI): 230/42 ug dos veces al día o 460/42 ug dos veces al día; o

25 Terapia de combinación de budesonida/formoterol (Symbicort® 160/9 ug dos veces al día o 320/9 ug dos veces al día); o terapia de combinación de mometasona/formoterol (Dulera® 200/10 ug dos veces al día o 400/10 ug dos veces al día).

30 Los pacientes que estuvieron con budesonida/formoterol o mometasona/formoterol se cambiaron a una dosis equivalente de fluticasona/salmeterol en la aleatorización (día 1) y los pacientes que habían estado con fluticasona/salmeterol permanecieron con lo mismo como terapia de base.

Los pacientes que satisficieron los criterios de inclusión y exclusión (véase a continuación) se aleatorizaron a uno de los siguientes tratamientos: 300 mg de mAb1 administrados de forma subcutánea una vez a la semana durante 12 semanas; o placebo administrado de forma subcutánea una vez a la semana durante 12 semanas.

35 El estudio comprendió un periodo de prueba de 2 semanas, un periodo de tratamiento de 12 semanas que comprendía una fase estable de la terapia de base de 4 semanas y una fase de retirada de la terapia de base de 8 semanas posterior a la aleatorización, seguido por un periodo de seguimiento posterior al tratamiento de 8 semanas.

Algoritmo para la retirada de la terapia de base (ICS/LABA):

40 Los pacientes permanecieron con terapia de base de fluticasona/salmeterol dos veces al día durante 4 semanas después de comenzar la terapia o tratamiento suplementario de 300 mg de mAb1 (o placebo). A las 4 semanas después de la aleatorización, los pacientes se cambiaron de la terapia de combinación de fluticasona/salmeterol dos veces al día a una dosis de ICS equivalente de la monoterapia de fluticasona (que comprende o bien formulación de Flovent® Diskus – DPI de 250 ug o 500 ug dos veces al día; o formulación de Flovent® HFA - MDI de 220 ug o 440 ug dos veces al día). El componente LABA (es decir, salmeterol) se interrumpió. En visitas posteriores, empezando con la semana 6, la dosis de fluticasona se redujo en aproximadamente 50%, siempre que el paciente no cumpliera ninguno de los criterios para la exacerbación asmática (como se define a continuación). Si no se dieron exacerbaciones asmáticas, la retirada de ICS procedió según el siguiente calendario de dosificación:

Fase estable de la terapia de base	Fase de retirada de la terapia de base				
	Semana 4	Semana 6	Semana 7	Semana 8	Semana 9
Fluticasona/salmeterol (DPI):	Fluticasona (DPI): 250	100 µg dos	50 µg dos	0 µg dos	0 µg dos

250/50 µg dos veces al día Fluticasona/salmeterol (DPI): 500/50 µg dos veces al día	µg dos veces al día Fluticasona (DPI): 500 µg dos veces al día	veces al día 250 µg dos veces al día	veces al día 100 µg dos veces al día	veces al día 50 µg dos veces al día	veces al día 0 µg dos veces al día
Fluticasona/salmeterol (MDI): 230/42 µg dos veces al día Fluticasona/salmeterol (MDI): 460/42 µg dos veces al día	Fluticasona (MDI): 220 µg dos veces al día Fluticasona (MDI): 440 µg dos veces al día	110 µg dos veces al día 220 µg dos veces al día	44 µg dos veces al día 110 µg dos veces al día	0 µg dos veces al día 44 µg dos veces al día	0 µg dos veces al día 0 µg dos veces al día

Tras completar 12 semanas de tratamiento con el producto de investigación (o poco después de la interrupción), los pacientes se pusieron su dosis original de fluticasona/salmeterol, budesonida/formoterol o mometasona/formoterol (dosis al inicio del estudio) y albuterol o levalbuterol como se necesite para controlar sus síntomas durante unas 8 semanas adicionales sin la medicación de estudio antes de una evaluación de seguridad final.

Los pacientes adultos se incluyeron en el estudio en base a los siguientes criterios: (1) diagnóstico del médico de asma persistente durante al menos ≥12 meses en base a las Guías de la Iniciativa Global para el Asma (GINA) 2009, cuya inflamación de las vías aéreas es probable que sea eosinófila; y (2) cuyo asma esté parcialmente controlado o no controlado en terapia de combinación de corticosteroides inhalados/beta-agonistas de acción prolongada según los siguientes criterios: (i) dosis estable de, o bien terapia de combinación de fluticasona/salmeterol (formulación DPI: 250/50 µg dos veces al día o 500/50 µg dos veces al día o formulación MDI: 230/42 µg dos veces al día o 460/42 µg dos veces al día), o terapia de combinación de budesonida/formoterol (160/9 µg dos veces al día o 320/9 µg dos veces al día), o terapia de combinación de mometasona/formoterol (200/10 µg dos veces al día o 400/10 µg dos veces al día) durante al menos 1 mes antes de la prueba; (ii) eosinófilos en sangre ≥300 células/µl o eosinófilos en esputo ≥3% durante la fase de prueba; (iii) puntuación del cuestionario de control de asma de Juniper (versión de 5 preguntas, ACQ) de ≥1,5 y ≤3,0 en la prueba; (iv) FEV1 ≥50% previsto normal durante la fase de prueba (3 intentos máximo) y en el día de aleatorización antes de la primera dosis (3 intentos máximo); (v) ha tenido en los 2 años antes de la prueba o bien tratamiento con una o más dosis unitarias de esteroides sistémicos (oral y/o parenteral) por empeoramiento del asma u hospitalización o una visita a urgencias por empeoramiento del asma; y (vi) historial documentado de reversibilidad en los 12 meses de prueba que cumple el criterio – al menos 12% y 200 mL en FEV1 después de 200 µg a 400 µg (2 a 4 inhalaciones) de albuterol durante la fase de prueba (3 intentos máximo), o historial documentado de una exposición a metacolina positiva (PD20 de metacolina ≤8 mg) en los 12 meses antes de la prueba. Los pacientes con asma de moderada a severa que están parcialmente controlados o no controlados con dosis de moderadas a altas de terapia de combinación con corticosteroides inhalados y beta agonistas de acción duradera (ADVAIR®, SYMBICORT® o DULERA®) y con eosinófilos en sangre mayores que o iguales a 300 células por microlitro, o eosinófilos en esputo mayores que o iguales a 3% durante la fase de prueba, se incluyeron en el estudio.

Los pacientes que cumplieron todos los criterios de inclusión se examinaron para los siguientes criterios de exclusión: (1) pacientes menores de 18 años de edad o mayores de 65 años de edad; (2) valores de laboratorio anormales clínicamente relevantes que sugieren una enfermedad desconocida y que necesitan evaluación adicional; (3) enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) y/u otras enfermedades pulmonares que alteran las pruebas de función pulmonar; (4) pacientes que necesitan bloqueantes de receptores beta-adrenérgicos por cualquier razón; (5) fumador habitual o que ha dejado de fumar en los 6 meses anteriores a la prueba; (6) antiguo fumador con un historial de fumador de >10 paquetes de cigarrillos-años; (7) hospitalización o visita a urgencias debido a exacerbación asmática en los 2 meses anteriores a la prueba; (8) piensa comenzar con inmunoterapia a alérgenos en el periodo de estudio; (9) exposición a otro anticuerpo en investigación en un periodo de tiempo antes de la prueba que es menor de 5 vidas medias del anticuerpo pero no menor que 30 días, o si la vida media del anticuerpo no se conoce, entonces por un periodo de tiempo anterior a la prueba que es al menos 6 meses; (10) inscripción previa en el estudio actual; (11) el paciente fue el investigador, un miembro de su familia o un empleado del sitio de investigación; (12) que se sabe o se sospecha incumplimiento, abuso de alcohol o drogas; (13) incapacidad para seguir los procedimientos del estudio (p.ej., debido a problemas de lenguaje o trastornos psicológicos); (14) inversión del patrón de sueño (p.ej., trabajador en turno de noche); (15) tratamiento con fármacos conocidos para prolongar el intervalo QTc; (16) enfermedad(es) severa(s) simultánea(s) para las que el uso de ICS (p.ej., tuberculosis pulmonar activa o inactiva) o LABA (p.ej., diabetes, enfermedades cardiovasculares, hipertensión, hipertiroidismo, tirotoxicosis, etc.) están contra-indicados; (17) el uso de glucocorticosteroides inyectables o glucocorticosteroides sistémicos orales en los 2 meses anteriores a la prueba o más de 3 veces en los 6 meses anteriores a la prueba; (18) pre-tratamiento con dosis variables de ICS, o bien solas o en combinación con un controlador no esteroideo (distinto que la terapia de combinación de fluticasona/salmeterol, terapia de combinación de budesonida/formoterol, o terapia de combinación de mometasona/formoterol); (19) pacientes que reciben medicaciones simultáneas prohibidas (enumeradas a continuación); (20) alergia conocida a doxiciclina o compuestos relacionados; (21) embarazo o intención de quedarse embarazada durante el estudio, que está dando el pecho o rechazo al uso de un método efectivo de contracepción; y (22) historial reciente de una infección parasitaria o viaje a un área endémica parasitaria en los 6 meses anteriores a la prueba.

Los pacientes permanecieron con una dosis constante de la terapia para el asma de base durante las primeras cuatro semanas del estudio después de lo cual la dosis de la terapia de base se redujo gradualmente. Primero, el

componente beta agonista de acción prolongada de la terapia de base se retiró en la semana 4, y después la dosis de corticosteroide inhalado se redujo a la mitad cada 2 semanas hasta la semana 12. Los pacientes continuaron con el tratamiento de estudio hasta el final del estudio o hasta que se retiraron debido a una exacerbación asmática o por cualquier otra razón.

5 B. Tratamientos de estudio

Producto de investigación: se proporcionó una disolución estéril de mAb1 150 mg/mL para inyección SC en un vial de vidrio de 5 mL. Cada vial contenía un volumen extraíble de 2 mL. Una dosis de 300 mg se administró de forma subcutánea en el sitio de estudio una vez a la semana por la mañana durante 12 semanas.

10 Placebo: se proporcionó un placebo estéril para inyección SC en un vial de vidrio de 5 mL emparejado de forma idéntica. Cada vial contenía un volumen extraíble de 2 mL. El placebo se administró de forma subcutánea en el sitio de estudio una vez a la semana por la mañana durante 12 semanas.

15 Las medicaciones simultáneas siguientes no se permitieron durante la duración del estudio: cualquier otro esteroide inhalado distinto de terapia de combinación de fluticasona/salmeterol o fluticasona administrada por el protocolo (o budesonida/formoterol o mometasona/formoterol durante el periodo de prueba); esteroides sistémicos u oculares; LABAs distintos del componentes de salmeterol de la terapia de combinación de fluticasona/salmeterol administrada por el protocolo; cualquier otro producto de combinación de ICS/LABA distinto de los dados anteriormente; cualquier agente anti-colinérgico inhalado (p.ej., bromuro de ipratropio o tiotropio); metilxantinas (teofilina, aminofilinas); cromonas; terapia anti-IgE; inhibidores de lipoxigenasa, y antagonistas del receptor de leucotrieno o inhibidores de la síntesis de leucotrieno.

20 C. Eficacia del tratamiento

El criterio de valoración principal de este estudio fue la aparición de una exacerbación asmática como se define por cualquiera de lo siguiente: (1) una reducción del 30% o más desde el punto de referencia en el flujo espiratorio máximo (PEF) de la mañana en dos días consecutivos; o (2) seis o más dosis adicionales aliviadoras de albuterol o levalbuterol en un periodo de 24 horas (en comparación con el punto de referencia) en 2 días consecutivos; o (3) deterioro del asma, como se determina por el investigador, que necesita: (a) tratamiento esteroideo sistémico (oral y/o parenteral), o (b) un aumento en el ICS de ≥ 4 veces la última dosis recibida antes de la interrupción del estudio, o (c) hospitalización.

Los criterios de valoración secundarios del estudio incluyeron cambios medios desde el punto de referencia de los siguiente parámetros: (1) volumen espiratorio forzado en 1 segundo (FEV1) en litros medido en cada visita; (2) caudal espiratorio máximo de la mañana y la tarde (AM PEF y PM PEF) en litros/minuto medido diariamente; (3) uso diario de albuterol/levalbuterol en inhalaciones/días; (4) puntuación del Cuestionario de Control del Asma de cinco puntos (ACQ5) en cada visita; y (5) despertares nocturnos (núm. de veces por noche) medido diariamente y (6) una Prueba de Resultados Seno-nasales de 22 puntos (SNOT-22), evaluado en el punto de referencia y al final del tratamiento (en la semana 12), para evaluar los síntomas de las vías aéreas superiores. Los criterios de valoración secundarios también incluyeron la proporción de pacientes con un suceso de asma compuesto definido por un 30% o más de reducción desde el punto de referencia en el PEF de la mañana en dos días consecutivos junto con ≥ 6 dosis aliviadoras adicionales de albuterol o levalbuterol en un periodo de 24 horas en comparación con el punto de referencia) en 2 días consecutivos. Se capturaron PEF, ACQ5, puntuaciones de síntomas de asma, despertares nocturnos y uso de medicación aliviadora en un diario electrónico diario. Los despertares nocturnos diarios medios, que oscilaban de 0-10, se promediaron a partir de los 7 días anteriores. Las puntuaciones de síntomas de asma por la mañana y por la tarde consistieron en un resultado no validado presentado al paciente evaluado en una escala tipo Likert de 5 puntos, indicando las mayores puntuaciones de peores resultados (Tabla 2). Los pacientes grabaron todas las puntuaciones de síntomas dos veces al día antes de medir PEF. Los datos se describen como el promedio para los 7 días anteriores al punto temporal especificado (véase, p.ej., las Figuras 26A y 26B).

45 Tabla 2: Evaluación de la puntuación de los síntomas del asma

A) Puntuación de los síntomas de la mañana:

- 0 = Sin síntomas de asma, durmió toda la noche
- 1 = Durmió bien, pero algunas molestias por la mañana. Sin despertares nocturnos
- 2 = Se despertó una vez por el asma (incluyendo despertar temprano)
- 3 = Se despertó varias veces por el asma (incluyendo despertar temprano)
- 4 = Mala noche, despierto la mayor parte de la noche por el asma

B) Puntuación de los síntomas de la tarde:

- 0 = Muy bien, sin síntomas de asma
- 1 = Un episodio de sibilancia, tos o dificultad respiratoria
- 2 = Más de un episodio de sibilancia, tos o dificultad respiratoria sin interferencia en las actividades normales
- 3 = Sibilancia, tos o dificultad respiratoria la mayor parte del día, que interfirió en algún grado con las actividades normales

4 = Asma muy mala. Incapaz de llevar a cabo las actividades diarias de forma normal

D. Monitorización de sucesos adversos

Se evaluó la seguridad a lo largo del estudio monitorizando los Sucesos Adversos y Sucesos Adversos Serios.

Un suceso adverso (SA) es cualquier incidencia médica inadecuada en un sujeto o sujeto de investigación clínica administrado con un producto farmacéutico. Un SA puede, por lo tanto, ser cualquier señal (que incluye un descubrimiento de laboratorio anormal), síntoma, o enfermedad temporalmente asociada con el uso de un producto médico desfavorable o involuntaria, se considere o no relacionado con el producto médico (de investigación). Los SAs también incluyen: cualquier empeoramiento (es decir, cualquier cambio clínicamente significativo en frecuencia y/o intensidad) de una condición pre-existente que está temporalmente asociada con el uso del fármaco de estudio; descubrimientos de laboratorio anormales considerados por el investigador que son clínicamente significativos; y cualquier incidencia médica inadecuada.

Un suceso adverso serio (SAS) es cualquier incidencia médica inadecuada que a cualquier dosis da por resultado la muerte; pone en riesgo la vida; necesita la hospitalización o prolongación de hospitalización existente; da por resultado una discapacidad/incapacidad persistente o significativa; es una anomalía congénita/defecto de nacimiento; o es una incidencia médica importante.

E. Métodos estadísticos

Para el análisis primario de la proporción de pacientes que experimentaron una exacerbación asmática, se usó un modelo de regresión logística para comparar el grupo SAR con el placebo. El modelo incluyó términos para el tratamiento y factor de estratificación (ante de la dosis de terapia de combinación ICS/LABA). El análisis primario se realizó en base a la población con intención de tratar modificada (mITT), que incluyó todos los pacientes aleatorizados que recibieron al menos una dosis de producto medicinal de investigación (IMP). Una prueba de chi-cuadrado estratificada se usó también para corroborar el análisis primario.

Para los criterios de valoración de eficacia secundarios, excepto SNOT-22, el cambio desde el punto de referencia se analizó usando un enfoque de modelo de efecto mixto con medidas repetidas (MMRM). El modelo incluyó el cambio desde los valores del punto de referencia hasta la semana 12 como variables de respuesta, y factores (efectos fijos) para el tratamiento, factor de estratificación, visita, interacción de tratamiento por visita, valor de referencia, e interacción de punto de referencia por visita. Las inferencias estadísticas en las comparaciones del tratamiento para el cambio desde el punto de referencia a la semana 12 se derivaron a partir del modelo de efecto mixto. El cambio desde el punto de referencia en SNOT-22 se analizó usando un análisis de covarianza (ANCOVA), con medidas de fin de tratamiento usadas para imputar los datos que faltaban. Los efectos farmacodinámicos se evaluaron usando modelos MMRM en un modo *post hoc*. No se hicieron ajustes para la multiplicidad, ya que solo había un criterio de valoración y análisis primarios. Las variables de seguridad que incluían SAs, parámetro de laboratorio, signos vitales, ECG, observaciones del laboratorio clínico y exámenes físicos se resumieron usando estadísticas descriptivas.

Las características demográficas y clínicas se resumieron usando características descriptivas. Se presentan gráficos de variables secundarias y farmacodinámicas como cambio medio desde el punto de referencia en el tiempo con error estándar. La comparación de los efectos del tratamiento a partir de los análisis MMRM se basan en el cambio medio de los mínimos cuadrados (intervalos de confianza al 95% [IC]) desde el punto de referencia a la semana 12.

F. Resultados

Los resultados observados con todos los 104 pacientes aleatorizados (de 491 probados) que o bien completaron o interrumpieron la fase de tratamiento del estudio se resumen a continuación. Todos los pacientes aleatorizados estuvieron expuestos al tratamiento de estudio y se incluyeron en la población mITT. Las características del punto de referencia fueron similares entre grupos. Las características demográficas y clínicas fueron también similares entre los dos grupos (Tabla 3). Como se observó anteriormente, los pacientes se trataron o bien con 300 mg de mAb1 subcutáneo una vez a la semana, o bien con placebo. El periodo de tratamiento de estudio se completó en 86,5% y 67,3% de los pacientes de mAb1 y placebo, respectivamente (Figura 25). La causa más común de interrupción fue la falta de eficacia, que fue más frecuente con el placebo (21,2%) que con mAb1 (1,9%).

Tabla 3. Características demográficas y clínicas del punto de referencia de los grupos de tratamiento.*

Variable	Placebo (N = 52)	mAb1 300 mg (N = 52)
Edad (años)	41,6 ± 13,1	37,8 ± 13,2
Sexo masculino, núm. (%)	26 (50,0)	26 (50,0)
Raza o grupo étnico, núm. (%)		
Blanco	38 (73,1)	45 (86,5)
Negro o afroamericano	9 (17,3)	5 (9,6)
Asiático	3 (5,8)	1 (1,9)

Otra	2 (3,8)	1 (1,9)
Índice de masa corporal		
Media (kg/m ²)	31,6 ± 7,0	31,3 ± 8,0
≥ 30, núm. (%)	25 (48,1)	24 (46,2)
Duración del asma (años)	26,9 ± 14,8	24,2 ± 12,6
Número de exacerbaciones asmáticas en los 2 años anteriores	1,4 ± 1,3	1,4 ± 1,0
Dosis de terapia de combinación ICS/LABA anterior, núm. (%)		
Alta dosis	41 (78,8)	42 (80,8)
Baja dosis	11 (21,2)	10 (19,2)
Eosinófilos en sangre (x10 ⁹ /l)	0,47 ± 0,21	0,55 ± 0,19
FEV ₁ (l)	2,54 ± 0,66	2,47 ± 0,65
FEV ₁ (% de valor predicho)	72,0 ± 12,7	72,0 ± 12,6
PEF (l/min)		
Mañana	406,9 ± 110,7	393,0 ± 101,1
Tarde	416,6 ± 116,8	414,6 ± 102,3
Puntuación de ACQ5	2,1 ± 0,5	2,1 ± 0,5
Puntuación de síntomas de asma		
Mañana	0,73 ± 0,63	0,75 ± 0,81
Tarde	1,12 ± 0,73	0,92 ± 0,71
Despertares nocturnos por día	0,21 ± 0,50	0,44 ± 0,80
SNOT-22	26,2 ± 15,6	30,9 ± 14,8
Inhalaciones de albuterol o levalbuterol/periodo de 24 horas	2,0 ± 1,8	2,2 ± 2,4
FeNO (ppb)	35,0 ± 27,1	37,6 ± 28,1
TARC (pg/ml)	470,5 ± 204,7	496,1 ± 342,4
Eotaxina-3 (pg/ml)	117,3 ± 349,2	75,4 ± 44,0
IgE (IU/ml)	694,7 ± 1837,8	657,7 ± 1482,3

*Valores más-menos son media ± DE, excepto que se anote otra cosa. ACQ5 indica el cuestionario de control de asma (versión de 5 preguntas), FeNO fracción de óxido nítrico exhalado, FEV₁ volumen espiratorio forzado en 1 segundo, IgE inmunoglobulina E, PEF volumen espiratorio máximo, SNOT-22 la prueba de resultado senonasal de 22 puntos, y TARC quimiocina regulada por timo y activación.

(i) Criterio de valoración de eficacia primaria

La incidencia de las exacerbaciones asmáticas en los grupos de tratamiento de placebo y mAb1 se presenta en la Tabla 4.

5 Tabla 4: Incidencia de exacerbaciones asmáticas en la población mITT

	Placebo (N=52)	mAb1 (N=52)
Pacientes sin exacerbaciones asmáticas	29 (55,8%)	49 (94,2%)
Pacientes con exacerbaciones asmáticas	23 (44,2%)	3 (5,8%)
Índice de probabilidad frente a placebo (95% de IC)	--	0,077 (0,021, 0,279)

10 Hubo un total de 26 exacerbaciones asmáticas durante el periodo de tratamiento, y ningún paciente fue hospitalizado por exacerbaciones asmáticas. Hubo 23 pacientes (44,2%) que experimentaron una exacerbación asmática en el grupo de placebo, aunque solo 3 pacientes (5,8%) experimentaron una exacerbación asmática en el grupo de tratamiento de mAb1. El índice de probabilidad es 0,077 (p <0,0001) y la reducción del riesgo relativo es aproximadamente 87%.

15 Fuera de las 26 exacerbaciones asmáticas experimentadas durante este estudio, 9 se consideraron severas, como se demuestra por una necesidad de intervención inmediata en forma de tratamiento con o bien corticosteroides sistémicos o con corticosteroides inhalados a 4 o más veces la dosis tomada antes del suceso. Un resumen de la incidencia de exacerbaciones asmáticas severas se presenta en la Tabla 5.

Tabla 5: Incidencia de exacerbaciones asmáticas severas en la población mITT

	Placebo (N=52)	mAb1 (N=52)
Pacientes sin exacerbaciones asmáticas	29 (55,8%)	49 (94,2%)
Pacientes con exacerbaciones asmáticas severas	8 (15,4%)	1 (1,9%)
Pacientes con exacerbaciones asmáticas no severas	15 (28,8%)	2 (3,8%)

- 5 Como se muestra en la Tabla 5, se observaron ocho exacerbaciones asmáticas severas en el grupo de placebo, y solo 1 exacerbación asmática severa se observó en el grupo de tratamiento mAb1. Las restantes 15 exacerbaciones asmáticas en el grupo de placebo y 2 en el grupo de mAb1 cumplieron la definición de exacerbación del protocolo basada en PEF de la mañana disminuido y/o uso de albuterol/levalbuterol aumentado. Como se muestra en la Tabla 6, en el grupo de tratamiento activo, se observó una mejora sostenida frente al punto de referencia durante el estudio para todos los parámetros, a pesar de la retirada de esteroides.

Tabla 6. Sucesos de exacerbación

Resultado	Placebo (N = 52)	mAb1 (N = 52)
≥ 30% de reducción desde el punto de referencia en el PEF de la mañana en un periodo de 24 horas en 2 días consecutivos	10* (19,2)	1 (1,9)
≥ 6 inhalaciones adicionales de albuterol/levalbuterol en un periodo de 24 horas en 2 días consecutivos	10 (19,2)	1 (1,9)
Tratamiento esteroideo sistémico	5 (9,6)	1 (1,9)
Aumento de ≥ 4 veces en ICS desde la dosis anterior	3 (5,8)	0
Hospitalización	0	0

*4 pacientes de placebo cumplieron tanto PEF como los criterios del tratamiento esteroideo sistémico, y 1 paciente de placebo cumplió tanto PEF como el uso de albuterol/levalbuterol adicional.

- 10 Con mAb1, el tiempo de exacerbación fue más largo (Figura 1), y el riesgo de exacerbación se redujo respecto al placebo (cociente de riesgo 0,10; IC al 95% 0,03, 0,34; $P < 0,001$). Un análisis del tiempo de exacerbación asmática mediante la gráfica de Kaplan-Meier reveló que el efecto del tratamiento con mAb1 se sostiene en el tiempo, que incluye después de 8 semanas cuando los pacientes tienen un mayor riesgo de desarrollar exacerbaciones debido a la retirada de esteroides (Figura 1).

- 15 Solo 1 paciente del grupo de placebo tuvo un suceso de asma compuesto. Un suceso de asma compuesto se define como un 30% o más de reducción desde el punto de referencia en PEF de la mañana en 2 días consecutivos junto con ≥6 dosis aliviadoras adicionales de albuterol o levalbuterol en un periodo de 24 horas (en comparación con el punto de referencia) en 2 días consecutivos.

(ii) Otros criterios de valoración de eficacia

- 20 Los parámetros de función pulmonar (FEV1, AM PEF y PM PEF), los criterios de valoración basados en síntomas asmáticos (puntuación ACQ, despertares nocturnos), y el uso de albuterol se evaluaron para cada paciente en cada visita. Los resultados observados para estos parámetros (cambio semanal desde el punto de referencia) se representan en las Figuras 2-7, respectivamente. Además, la puntuación SNOT-22 se evaluó en el punto de referencia y al final del tratamiento. Para todos los parámetros, los valores medios del punto de referencia y la semana 12 (LOCF) junto con la diferencia media entre grupos de tratamiento (modelo ANOVA para SNOT-22) se resumen en la Tabla 7. En la Tabla 7, la columna marcada "diferencia frente a placebo" refleja el valor corregido de placebo desde el punto de referencia que tiene en cuenta cambios que se observan en el valor del parámetro en comparación con los cambios que se observaron para ese parámetro en el grupo tratado con placebo.

Tabla 7: Parámetros secundarios de función pulmonar y puntuaciones de síntomas

	N	Media del punto de referencia (DE)	Cambio de media de mínimos cuadrados (DE)	Diferencia frente a placebo	Valor p
FEV1 (L)					
Placebo	52	2,54 (0,66)	-0,22 (0,06)	--	
mAb1	52	2,47 (0,65)	0,05 (0,06)	0,27 (0,11, 0,42)	0,0009
AM PEF (L/min)					
Placebo	52	406,9 (110,7)	-20,7(9,1)	--	
mAb1	51	393,0 (101,1)	13,9 (8,8) †	34,6 (10,6, 58,5)	0,0051
PM PEF (L/min)					
Placebo	51	416,6 (116,8)	-18,4 (8,9)†	--	
mAb1	52	414,6 (102,3)	4,3 (8,5)	22,7 (-0,7, 46,0)	0,0567
Uso de albuterol (Dosis/Día)					
Placebo	52	2,0 (1,8)	0,7 (0,3)	--	
mAb1	50	2,2 (2,4)	-1,3 (0,3)‡	-2,0 (-2,9, -1,2)	<0,0001
Puntuación ACQ					
Placebo	52	2,08 (0,52)	-0,27 (0,16)	--	
mAb1	52	2,09 (0,46)	-1,00 (0,16)	-0,73 (-1,15, -0,30)	0,0011
Despertares nocturnos (núm. de veces/noche)					
Placebo	52	0,2 (0,5)	0,1 (0,1)	--	

mAb1	52	0,4 (0,8)	-0,2 (0,1)	-0,2 (-0,5, -0,0)	0,0518
Puntuación promedio de SNOT22					
Placebo	51	26,24 (15,62)	0,23 (2,15)†	--	
mAb1	50	30,92 (14,77)	-8,26 (2,20)‡	-8,49 (-13,96, -3,03)	0,0027

† 51 pacientes con al menos 1 evaluación posterior al punto de referencia.

‡ 50 pacientes con al menos 1 evaluación posterior al punto de referencia.

El tratamiento con mAb1 dio por resultado un cambio significativo desde el punto de referencia en FEV1 en la semana 1, que se mantuvo hasta la semana 12 (Figura 2) a pesar de la retirada de LABA e ICS, con una pequeña disminución en FEV1 en la semana 5 coincidiendo con la retirada de LABA. Se observaron mejoras similares en PEF de la mañana, pero menos en PEF de tarde (Figuras 3 y 4). El cambio medio de mínimos cuadrados (MC) desde el punto de referencia a la semana 12 en FEV1 fue -0,22 L para placebo y 0,05 L para el grupo de mAb1 ($p=0,0009$).

La puntuación ACQ5 mejoró en ambos grupos de tratamiento en la semana 1 (Figura 6). Sin embargo, aunque el ACQ5 mejoró más con mAb1 entre las semanas 1 y 4, el efecto placebo se estabilizó, manteniendo la diferencia hasta la semana 12.

Las puntuaciones de los síntomas de la mañana aumentaron desde el punto de referencia a la semana 12 con el placebo. Con mAb1, hubo una disminución inicial que permaneció por debajo del punto de referencia hasta la semana 12 (Figura 26A). Se observó un patrón similar (con mayor variabilidad) para las puntuaciones de síntomas de asma de tarde (Figura 26B).

Los despertares nocturnos fueron estables en el grupo de placebo hasta la semana 6, después aumentaron desde las semanas 6 a 12. En contraste, los despertares nocturnos disminuyeron en el grupo de mAb1 desde la semana 1 y permanecieron mejorados frente al punto de referencia hasta la semana 12 (Figura 7).

Los cambios en el uso de albuterol/levalbuterol (Figura 5) fueron similares a otros criterios de evaluación secundarios: una disminución inicial seguida por una vuelta hacia el punto de referencia con el placebo. Con mAb1, la disminución inicial se mantuvo en el tiempo.

Hubo una diferencia no significativa en el punto de referencia entre los valores SNOT-22, con la puntuación media de placebo a 26,24 y la puntuación media de mAb1 a 30,92. En la semana 12, el cambio medio de MC fue un ligero aumento de 0,23 puntos para el grupo de placebo y una disminución media (mejora) de 8,26 puntos para el grupo de mAb1. Esto representó una magnitud de mejora de 8,49 puntos para el grupo mAb1 ($p=0,0027$).

Tabla 8. Criterios de valoración secundarios

Resultado	Placebo (N = 52)	mAb1 (N = 52)	Diferencia frente a placebo (IC al 95%)**	Valor P
Estimación de Kaplan-Meier a las 12 semanas	46,0 (31,8, 60,2)	5,8 (0,0, 2,1)	0,10 (0,03 a 0,34)	<0,001
Cambios en las puntuaciones de los síntomas de asma de mañana, punto de referencia a la semana 12	0,3 ± 0,1	-0,4 ± 0,1	-0,7 (-0,9 a -0,4)	<0,001
Cambio en las puntuaciones de los síntomas de asma de tarde, punto de referencia a la semana 12	0,1 ± 0,1	-0,6 ± 0,1	-0,7 (-0,9 a -0,4)	<0,001

Tabla 9. Cambio desde el punto de referencia a la semana 12 en puntos de SNOT-22 relevantes para la enfermedad de las vías aéreas superiores.

Sub-escala de SNOT-22	Cambio medio de mínimos cuadrados ± error estándar		Diferencia frente a placebo (IC al 95%)	Valor P
	Placebo (N = 52)	mAb1 (N = 52)		
Necesidad de sonarse la nariz	-0,25 ± 0,17*	0,95 ± 0,17†	-0,70 (-1,13, -0,26)	0,002
Bloqueo nasal	-0,20 ± 0,19*	-0,94 ± 0,19†	0,75 (-1,22, -0,28)	0,002
Disminución del sentido del olfato/gusto	0,04 ± 0,18*	-1,13 ± 0,18†	-1,16 (-1,62, -0,71)	< 0,001

*51 y †50 pacientes con al menos 1 evaluación posterior al punto de referencia respectivamente

Para todos los criterios de valoración secundarios, las medidas de la semana 12 favorecieron al tratamiento de mAb1 y fueron significativas, excepto para PEF de tarde y despertares nocturnos (Tabla 7 y 8). También se observaron mejoras significativas con mAb1 para los tres puntos SNOT-22 relevantes para la enfermedad de vías aéreas superiores (Tabla 9).

(iii) Seguridad

mAb1 fue generalmente seguro y bien tolerado. Se presentaron sucesos adversos emergentes con el tratamiento (SAETs) de forma similar por 40 (76,9%) pacientes tratados con placebo y por 42 (80,8%) pacientes tratados con mAb1 (Tabla 10). Los SAETs fueron no específicos, generalmente suaves a moderados en intensidad, y la mayoría se recuperó para el final del estudio. Se observó un informe aumentado de los siguientes SAETs para mAb1 en comparación con placebo: se presentaron reacciones en el sitio de inyección en 15 (28,8%) pacientes de mAb1 y en 5 (9,6%) pacientes de placebo; se presentó nasofaringitis en 7 (13,5%) pacientes de mAb1 y 2 (3,8%) pacientes de placebo; se presentó dolor de cabeza en 6 (11,5%) pacientes de mAb1 y 3 (5,85) pacientes de placebo y se presentó náuseas en 4 (7,7%) pacientes de mAb1 y 1 (1,9%) paciente de placebo.

Tabla 10. Sucesos adversos

Suceso adverso	Placebo (N = 52)	mAb1 300 mg (N = 52)
	Núm. de pacientes (%)	
Cualquier suceso adverso	40 (76,9)	42 (80,8)
Cualquier suceso adverso serio	3 (5,8)	1 (1,9)
Interrupción del estudio debido al suceso adverso	3 (5,8)	3 (5,8)
Muerte	0	0
SAs más comunes*		
reacciones en el sitio de inyección†	5 (9,6)	15 (28,8)
nasofaringitis	2 (3,8)	7 (13,5)
infección del tracto respiratorio superior	9 (17,3)	7 (13,5)
dolor de cabeza	3 (5,8)	6 (11,5)
náusea	1 (1,9)	4 (7,7)
picadura de artrópodo	0	3 (5,8)
espasmos musculares	0	3 (5,8)
congestión nasal	1 (1,9)	3 (5,8)
sarpullido	1 (1,9)	3 (5,8)
urticaria	0	3 (5,8)
infección vírica del tracto respiratorio superior	0	3 (5,8)

*≥ 3 pacientes en cualquier grupo de tratamiento por término preferido

†La reacción en el sitio de inyección incluye sucesos presentados como: dolor en el sitio de inyección, reacción en el sitio de inyección, eritema en el sitio de inyección, sarpullido en el sitio de inyección, hematoma en el sitio de inyección, urticaria en el sitio de inyección, dermatitis en el sitio de inyección, inflamación en los sitios de inyección, nódulo en el sitio de inyección, prurito en el sitio de inyección e hinchazón del sitio de inyección.

No hubo muertes presentadas durante el periodo de estudio. De los 4 sucesos adversos serios (SASs) emergentes del tratamiento presentado: 1 paciente de mAb1 experimentó trastorno bipolar y 3 pacientes de placebo experimentaron SASs de asma con neumonía, herida de disparo con neumotórax izquierdo, y fractura de tobillo derecho. Ninguno de estos SASs se consideró relacionado con el IMP y todos menos la reciente fractura de tobillo se recuperaron para el final del estudio. No hubo muertes.

Un total de 6 pacientes interrumpieron el estudio debido a un SAET: 3 pacientes en el grupo de mAb1 (trastorno bipolar, asma con sibilancia y angioedema) y 3 pacientes en el grupo placebo (infección del tracto respiratorio superior, soriasis y asma). El SAET de angioedema se dio en una mujer afroamericana de 42 años después de la novena dosis de tratamiento de estudio como un sarpullido popular, prurítico, observado en, y lejos de, el sitio de inyección. Persistió durante una semana, se resolvió después de la interrupción del tratamiento del estudio, y de tratamiento con prednisona y difenhidramina. Se consideró relacionado con el tratamiento. Este SA fue posterior a los sarpullidos más suaves en el sitio de inyección después de la primera y sexta dosis del tratamiento de estudio.

Entre los SAs más comunes que se dan en ≥3 pacientes en cualquier grupo de tratamiento (Tabla 10), las reacciones en el sitio de inyección, nasofaringitis, náusea y dolor de cabeza se dieron más frecuentemente con mAb1 que con placebo. No se presentaron cambios clínicamente significativos en los signos vitales, examen físico, descubrimientos del laboratorio clínico o ECG en ningún grupo.

G. Conclusión

Se observaron mejoras significativas para la función pulmonar y otros parámetros de control del asma. Se observó eficacia temprana y sostenida a pesar de la retirada de la terapia de base. Una reducción relativa de aproximadamente 87% ($p < 0,0001$) en el criterio de valoración primario de la incidencia de exacerbaciones asmáticas en pacientes con asma persistente, de moderada a severa, con eosinofilia se observó después del tratamiento de 12 semanas con 300 mg de mAb1 una vez a la semana (5,8%) en comparación con placebo (44,2%). Como se muestra en la Tabla 7, se observaron mejoras clínicamente significativas y estadísticamente significativas (sin ajuste de multiplicidad) con tratamiento en comparación con placebo en los parámetros de la función pulmonar (FEV1, PEF AM), puntuaciones de síntomas de asma (ACQ) y uso de albuterol. Se observaron tendencias positivas para PEF

PM ($p=0,0567$) y despertares nocturnos ($p=0,0518$). También se observó una mejora estadísticamente significativa (sin ajuste de multiplicidad) para la puntuación SNOT-22. En el grupo de tratamiento activo, se observó una mejora sostenida frente al punto de referencia durante el estudio para todos los parámetros, a pesar de la retirada de LABA e ICS. mAb1 fue generalmente seguro y bien tolerado.

5 Ejemplo 3: Estudios de biomarcador

El análisis de biomarcadores se realizó en muestras tomadas de sujetos que participaron en ensayos clínicos de mAb1 (véase el Ejemplo 2 anterior). En particular, se midieron los biomarcadores en suero/plasma asociados con la inflamación TH2, tal como quimiocina de timo y activación (TARC; CCL17), Inmunoglobulina E (IgE), eotaxina-3, periostina, antígeno carcinoembrionario (CEA), YKL-40 y eosinófilos en sangre, en muestras de pacientes en el punto de referencia y a diferentes puntos temporales después del inicio de (de los) tratamiento(s) del estudio. Se evaluaron los niveles en el punto de referencia de estos biomarcadores para el valor predictivo potencial para la respuesta al tratamiento. Además, se midieron la fracción de NO exhalado (FeNO) y los eosinófilos y neutrófilos en esputo inducido como biomarcadores de inflamación bronquial. La evaluación del óxido nítrico exhalado se realizó antes de la espirometría y después de ayuno de al menos 1 hora usando un instrumento NIOX (Aerocrine AB, Solna, Suecia). Los biomarcadores se analizaron usando un modelo mixto y la media mínima cuadrada derivada del modelo se presenta a continuación.

Los sujetos con asma ($N=104$) se administraron o bien con mAb1 (300 mg) o placebo de forma subcutánea, en los días 1, 8, 15, 22, 29, 36, 43, 50, 57, 64, 71 y 78 del estudio (es decir, 12 dosis semanales) (véase el Ejemplo 2 en la presente memoria). Las muestras para el análisis de biomarcadores se recogieron de los sujetos tratados con anticuerpo y placebo en la semana 0, 1, 4, 8 y 12. Se detectó IgE específico del antígeno usando la prueba Phadiatop®.

TARC, eotaxina-3 e IgE permanecieron sin cambios en respuesta al placebo (Figuras 8, 9 y 10). En contraste, una rápida reducción en TARC (% de cambio medio $-22,7\%$ frente a $+0,3\%$; $p=0,0003$) (Figura 8) y eotaxina-3 (% de cambio medio $-39,62\%$ frente a $12,69\%$; $p<0,0001$) (Figura 9) se observó en una semana en pacientes tratados con mAb1 y persistió hasta la semana 12: TARC: $-26,0\%$ frente a $+7,6\%$ de placebo ($p=0,0005$); Eotaxina-3: $-45,67\%$ frente a $+5,13\%$ de placebo ($p<0,0001$).

Los niveles de TARC respondieron en una semana después de la exposición a mAb1 a 300 mg administrado de forma subcutánea. Los niveles de TARC se estabilizaron a aproximadamente 50% del nivel del punto de referencia en sujetos tratados con mAb1, sin importar la retirada de ICS. Los datos sugieren que la expresión de TARC está unida más directamente a la señalización de IL-4R, que los cambios de FEV1 (que caen en paralelo a la retirada de ICS [después de la semana 4]) y que el bloqueo de IL-4R induce un desplazamiento hacia una firma TH1, como se observa con, por ejemplo, la administración de IFN γ . Podría ser posible titular la dosis de mAb1 usando TARC (y por ejemplo CXCL10) en particular en pacientes que necesitan un tratamiento a largo plazo y en riesgo de enfermedades inmunes tipo TH1.

IgE en suero total también disminuyó después del tratamiento con mAb1. La respuesta de IgE en suero total fue más heterogénea y se retrasó en comparación con la respuesta de TARC. Los niveles de IgE en el punto de referencia medios (DE) fueron 694,68 IU/L (1837,82) para el grupo de placebo ($n=52$) y 657,66 (1482,25) para el grupo de mAb1 ($n=52$), mientras que la media fue 169,95 para el grupo de placebo y 206,15 para el grupo de mAb1. A pesar de esta heterogeneidad, se observó una tendencia hacia la disminución de IgE en pacientes expuestos a mAb1 en comparación con placebo, sin embargo, empezando solo en la semana 4. El IgE en suero se redujo significativamente en el grupo de mAb1 en comparación con el placebo (% de cambio medio, $-10,1\%$ frente a $+13,5\%$; $p=0,0325$) empezando a partir de la semana 4 y continuó disminuyendo hasta la semana 12 (% de cambio medio, $-36,8\%$ para REGN668/SAR231893 frente a $-5,5\%$ para placebo; $p<0,0001$) (Figura 10).

Los cambios desde el punto de referencia y placebo en la semana 12 para FeNO, TARC, eotaxina-3 e IgE todos favorecieron a mAb1 (todos $P<0,001$) (Tabla 11). No se observaron diferencias desde el punto de referencia o entre tratamientos en YKL-40 o CEA.

Tabla 11. Porcentaje de cambio desde el punto de referencia a la semana 12 en los criterios de valoración farmacodinámicos.

Resultado	Cambio de porcentaje medio de mínimos cuadrados $\pm$ error estándar		Valor P
	Placebo (N = 52)	mAb1 (N = 52)	
FeNO	$35,0 \pm 10,8$	$28,7 \pm 11,2$	$< 0,001$
TARC	$7,6 \pm 6,9$	$-26,0 \pm 6,9$	$< 0,001$
Eotaxina-3	$5,1 \pm 4,7$	$-45,7 \pm 4,7$	$< 0,001$
IgE	$5,5 \pm 3,6$	$-36,8 \pm 3,6$	$< 0,001$
Eosinófilos en sangre	$2,7 \pm 15,8$	$41,6 \pm 15,7$	0,078

Hubo una disminución transitoria en los niveles de periostina, seguido por un aumento con la retirada de LABA/ICS (Figura 11). La administración de mAb1 retrasó el aumento, pero no evitó el aumento por encima del punto de

referencia. No se observó un efecto consistente del tratamiento con CEA (Figura 12) e YKL-40 (Figura 13). El número de eosinófilos en sangre permaneció sin cambios en la semana 6, pero después aumentó en las semanas 8 y 12 (Figura 14). Los números de eosinófilos en sangre periférica no se cambiaron en el placebo en todo el tratamiento. La diferencia entre los tratamientos no fue significativa, con el aumento del límite dirigido por mayores elevaciones de eosinófilos en sangre en solo unos pocos pacientes tratados con mAb1. Se observaron pocos o ningún aumento en la mayoría de pacientes (Tabla 12).

Tabla 12. Proporciones de pacientes que alcanzan los umbrales de cambio en los niveles de eosinófilos en sangre.

Cambio en eosinófilos	Número (%) de pacientes	
	Placebo (n = 52)	mAb1 (n = 52)
>15% de disminución	13 (30,2)	21 (47,7)
15% de disminución-0% de cambio	7 (16,3)	6 (13,6)
0%-15% de aumento	8 (18,6)	4 (9,1)
15% - 100% de aumento	13 (30,2)	6 (13,6)
100%-200% de aumento	2 (4,7)	3 (6,8)
>200% de aumento	0	4 (9,1)

Puesto que solo 3 pacientes de mAb1 experimentaron exacerbación asmática durante el estudio, no podrían sacarse conclusiones respecto a la asociación entre los niveles de biomarcador en el punto de referencia y las exacerbaciones asmáticas.

El tratamiento de mAb1 se asoció también con una disminución significativa desde el punto de referencia en FeNO en la semana 4, y el FeNo permaneció por debajo del punto de referencia hasta la semana 12, independientemente de la retirada de ICS (% de cambio medio en la semana 12: -28,7 para mAb1 frente a 35,0 para placebo; $p < 0,0001$) (Figura 15). En contraste, los valores de FeNo en placebo permanecieron estables hasta la semana 8, seguido por un aumento en la semana 12 coincidiendo con la retirada de ICS.

La mejora del volumen espiratorio forzado en 1 segundo (FEV₁) correlacionó significativamente con la reducción de FeNO ($r = -0,408$, $p = 0,009$) en la semana 12 (Figura 16). De forma similar, las mejoras en AM-PEF y PM-PEF correlacionaron con la reducción de FeNO (Figuras 17 y 18). Otras correlaciones con FeNO no fueron significativas. Véase la Tabla 13.

Tabla 13. Correlación entre FEV₁ y criterios de valoración PD.

Resultado	Correlación	Valor P
FeNO	-0,408	<0,009
TARC	-0,248	0,10
Eotaxina-3	-0,146	0,34
IgE	-0,279	0,06
Eosinófilos en sangre	0,165	0,28

El análisis del diagrama de dispersión de los eosinófilos en el punto de referencia frente al cambio desde el punto de referencia en FEV₁ a la semana 12 no parecía sugerir la asociación de los eosinófilos en el punto de referencia y el efecto del tratamiento, como se mide por el cambio desde el punto de referencia en FEV₁ a la semana 12 en la población de estudio (eosinófilos en el punto de referencia $\geq 0,3$ Giga/L) (Figura 19). Los eosinófilos en el punto de referencia correlacionaron con ACQ disminuido (Figura 20) y el uso de albuterol/levalbuterol disminuido (Figura 21). La periostina y YKL-40 en el punto de referencia correlacionaron con ACQ disminuido (Figuras 22 y 23).

El cambio de FEV₁ desde el punto de referencia a la semana 12 estaba compuesto por la retirada de ICS (empezando en la semana 4). Los análisis similares no sugirieron una asociación entre TARC o IgE en el punto de referencia y el cambio en el punto de referencia en FEV₁ a la semana 12 en la población de estudio (eosinófilos en el punto de referencia $\geq 0,3$ Giga/L).

Resumen

Estos resultados muestran que mAb1 redujo significativamente los biomarcadores en suero asociados con la inflamación Th2 (TARC, eotaxina-3 e IgE) y la inflamación bronquial (FeNO) en pacientes adultos con asma. La correlación entre la reducción de FeNO y la mejora de FEV₁ sugiere una relación entre la actividad anti-inflamatoria mediada por IL-4/IL-13 y la mejora en la función pulmonar en el asma no controlado, de moderado a severo.

Ejemplo 4: El bloqueo de la ruta de señalización de IL-4/IL-13 inhibe la producción de IgE y la remodelación de las vías aéreas en un modelo de ratón de asma eosinófila inducida por los ácaros del polvo doméstico.

Introducción

Se ha mostrado que el alérgeno de ácaros del polvo doméstico (APD) induce la respuesta inmune Th2, que incluye un influxo de célula Th2 en el pulmón, y la migración trans-endotelial inducida por IL-4 de eosinófilos en los pulmones. Los eosinófilos son las células efectoras predominantes en reacciones alérgicas y la liberación de los contenidos del gránulo (que incluyen IL-4) desde los eosinófilos contribuye a la inflamación. En pacientes asmáticos, la producción conducida por Th2 de IL-4 promueve la migración de eosinófilos desde la sangre a los pulmones por medio de eotaxina, un potente quimioatrayente de eosinófilos (Mochizuki et al., J. Immunol., 1998, 160(1):60-68). Además, cuando se localizan en el sitio inflamatorio, los eosinófilos producen y secretan IL-4, contribuyendo así a la inflamación conducida por Th2 en curso (Bjerke et al., *Respir. Med.*, 1996, 90(5):271-277). En pacientes con asma alérgica, una prueba con APD aumentó el nivel de IgE y las citoquinas Th2 en suero durante hasta 5 semanas después de la prueba del alérgeno (van de Pol et al., *Allergy*, 2012, 67(1):67-73).

En este ejemplo, un modelo inducido por APD de asma crónica se usó para evaluar los efectos farmacodinámicos de los anticuerpos anti-IL-4R en marcadores de la inflamación de vías aéreas en ratones. Además, los efectos de los anticuerpos anti-IL-4R en la deposición de colágeno en las vías aéreas se evaluaron en este modelo, ya que la deposición de colágeno correlaciona con la extensión del remodelado de las vías aéreas.

Materiales y métodos

Se usaron dos diferentes anticuerpos anti-IL-4R α en los experimentos de este ejemplo: "mAb1", un anticuerpo monoclonal totalmente humano específico para IL-4R α humano (es decir, el anticuerpo anti-IL-4R usado en los demás ejemplos de trabajo descritos en la presente memoria); y "anti-mIL-4R α ", un anticuerpo monoclonal de ratón específico para la proteína IL-4R α de ratón. mAb1 no reacciona de forma cruzada con IL-4R α de ratón; por lo tanto, se evaluó mAb1 en ratones humanizados en que tanto el IL-4 humano como el ectodominio de IL-4R α se diseñaron para sustituir sus correspondientes secuencias murinas en los ratones (IL-4^{hu/hu}IL-4R α ^{hu/hu}). El anticuerpo IL-4R α anti-ratón "anti-mIL-4R α " de ratón, por otro lado, se probó en ratones tipo salvaje (Balb/c). También se probó en estos experimentos una proteína de fusión IL-13R α 2-mFc de ratón que actúa como un receptor señuelo, que bloquea la señalización de IL-13 por secuestro de la citoquina IL-13.

Para el modelo de asma inducido por APD, los ratones se sensibilizaron por aplicación intranasal diaria de APD (50 μ g por ratón en 20 μ L de PBS) durante 10 días, seguido por descanso (periodo de resolución de 2 semanas). La prueba de alérgeno se administró por aplicación intranasal de APD (50 μ g por ratón en 20 μ L de PBS) tres veces a la semana durante 8 semanas. Para cada administración de APD, durante el periodo de sensibilización o prueba, los ratones se anestesiaron ligeramente con isoflurano.

Los ratones se aclimataron en la instalación experimental durante un mínimo de 5 días antes de iniciar el procedimiento experimental. Durante toda la duración del experimento, los animales permanecieron alojados en la instalación experimental bajo condiciones estándar en un ciclo de 12 horas día/noche con acceso al alimento y al agua *ad libitum*. El número de ratones por jaula se limitó a un máximo de 5 ratones.

Un número total de 48 ratones humanizados en que el ligando IL-4 humano y el ectodominio humano de IL-4R α , se diseñaron para sustituir sus secuencias murinas correspondientes (IL-4^{hu/hu}IL-4R α ^{hu/hu}) se usaron para dos experimentos. Los ratones IL-4^{hu/hu}IL-4R α ^{hu/hu} eran de una base mixta C57Bl/6NTac (75%)/129S6SvEvTac (25%). Además, 20 ratones crías normales tipo salvaje de una base mixta idéntica se usaron en uno de los tres experimentos. En cada experimento, los ratones se sensibilizaron con APD (o con PBS en el grupo de control) diariamente durante diez días, seguido por un periodo de resolución desde el día 11 al día 29. A partir del día 30, los animales se probaron con APD tres veces a la semana durante 8 semanas, hasta el día 81, y después se sacrificaron en el día 85 para el análisis. Los ratones se dividieron en seis grupos experimentales como sigue:

(1) No sensibilizados, no tratados: se aplicó PBS de forma intranasal durante los periodos de sensibilización y prueba. Los ratones no se trataron con anticuerpos (ratones IL-4^{hu/hu}IL-4R α ^{hu/hu} n=9; crías normales de tipo salvaje n = 5);

(2) Sensibilizados con APD, no tratados: se aplicó APD de forma intranasal durante los periodos de sensibilización y prueba. Los ratones no se trataron con anticuerpos (ratones IL-4^{hu/hu}IL-4R α ^{hu/hu} n = 7; crías normales tipo salvaje n = 5);

(3) Sensibilizados con APD, tratados con anti-mIL-4R α : se aplicó APD de forma intranasal durante los periodos de sensibilización y prueba. Los ratones se inyectaron i.p. con anti-mIL-4R α a una dosis de 50 mg/kg, dos veces por semana, desde la semana 7 a la semana 12, para un total de 12 dosis durante un periodo de 6 semanas (crías normales tipo salvaje n = 5);

(4) Sensibilizados con ADP, tratados con mAb1 anti-humano: se aplicó APD de forma intranasal durante los periodos de sensibilización y prueba. Los ratones se inyectaron i.p. con mAb1 a una dosis de 50 mg/kg, dos veces a la semana, desde la semana 7 a la semana 12, para un total de 12 dosis durante un periodo de 6 semanas (ratones IL-4^{hu/hu}IL-4R α ^{hu/hu} n = 12);

(5) Sensibilizados con ADP, tratados con proteína de fusión IL-13R α 2-mFc de ratón: se aplicó APD de forma intranasal durante los periodos de sensibilización y prueba. Los ratones se inyectaron i.p. con la IL-13R α 2-mFc a

una dosis de 25 mg/kg, dos veces a la semana, desde la semana 7 a la semana 12, para un total de 12 dosis durante un periodo de 6 semanas (ratones IL-4^{hu/hu}IL-4Rα^{hu/hu} n = 7; crías normales tipo salvaje n = 5);

- 5 (6) Sensibilizados con APD, tratados con anticuerpo de control de isotipo: se aplicó APD de forma intranasal durante los periodos de sensibilización y prueba. Los ratones se inyectaron i.p. con el control de isotipo Ab a la dosis de 50 mg/kg, dos veces a la semana, desde la semana 7 a la semana 12, para un total de 12 dosis durante un periodo de 6 semanas (ratones IL-4^{hu/hu}IL-4Rα^{hu/hu} n = 7).

10 Los ratones se sacrificaron en el día 85, la sangre se recogió para los ensayos del nivel de inmunoglobulina en suero, y se usó el pulmón (un lóbulo) para generar o bien i) fluido de lavado broncoalveolar (LBA), ii) una muestra de suspensión de célula sencilla digerida para el análisis citométrico de flujo, iii) una muestra de formalina fija para tinción y análisis histológico, o bien iv) una muestra para análisis usando el Ensayo de Colágeno SircolTM para cuantificar el contenido de colágeno por lóbulo pulmonar.

15 El fluido de LBA se obtuvo a partir de animales sacrificados exponiendo primero la tráquea e introduciendo un tubo de lavado 23G a través de una pequeña incisión en la pared traqueal. Se inyectó entonces PBS estéril (1 mL) en los pulmones, y se recuperó el fluido de LBA a través del tubo de lavado usando una jeringa. Se cargaron 100 µL de LBA en un Cytospin que se hizo girar durante 5 minutos a 500 rpm para extraer las células en portaobjetos de microscopio. Los portaobjetos se secaron y se tiñeron con H&E para visualizar los eosinófilos.

20 El nivel en suero de IgE se cuantificó usando un kit ELISA comercialmente disponible. Brevemente, se incubaron muestras de suero diluidas en serie con anticuerpo de captura anti-IgE en platos de 96 pocillos y el IgE se detectó por anticuerpo secundario IgE anti-ratón biotinilado. El IgE de ratón purificado que se marcó con HRP se usó como un patrón.

25 Los niveles en suero de IgG1 específico de APD se cuantificaron por ELISA. Brevemente, los platos recubiertos con APD se incubaron con muestras de suero diluidas en serie, seguido por incubación con anticuerpo conjugado IgG1-HRP anti-ratón. Los niveles relativos de niveles en suero de IgG1 se representaron como unidades de titulación (OD450 se multiplicó por un factor de dilución necesario para alcanzar OD450 ≤ 0,5). Los lóbulos pulmonares recogidos se congelaron rápidamente en nitrógeno líquido y se almacenaron a -80°C hasta la etapa de extracción. Para extraer el colágeno, los pulmones se homogeneizaron en disolución de NaCl/NaHCO₃ helada y se centrifugaron a 9000xg durante 10 min. Esta etapa se repitió tres veces, y el granulado resultante se digirió por pepsina en ácido acético durante 18 horas a 4°C. Las muestras se centrifugaron, y el sobrenadante se recogió y se mezcló con reactivo de tinte Sircol para teñir para el contenido de colágeno. Las muestras se lavaron con reactivo de lavado ácido-sal para eliminar el tinte Sircol no unido y después se mezclaron con reactivo alcalino. Se transfirieron 200 µL de cada muestra en un plato de 96 pocillos, y se midió OD a 555 nm. Se usó un patrón de colágeno para la cuantificación final de contenido de colágeno en cada muestra.

35 Los pulmones se recogieron a partir de ratones sacrificados y se mantuvieron en medio DMEM completo en hielo hasta digerirlos con una mezcla de collagenasa y ADNasa en tampón HBSS durante 20 minutos a 37°C. La actividad de collagenasa se desactivó por adición de EDTA 0,5M, las muestras se centrifugaron, y los glóbulos rojos se lisaron con tampón ACK. Las suspensiones celulares obtenidas para cada muestra se dividieron en tres grupos separados y se tiñeron con mezcla de anticuerpo 1 (anti-CD11c-APC Ab, anti-SiglecF-PE Ab, anti-F4/80-FITC Ab, anti-CD45-PerCp-Cy5.5 Ab), o mezcla 2 (anti-CD11c-APC Ab, anti-CD11b-PerCp-Cy5.5 Ab, anti-CD103-FITC Ab, anti-MHCII-PE Ab), o mezcla 3 (anti-CD19-PE Ab, anti-Ly6G-APC Ab, anti-CD3-FITC, anti-CD11b-PerCp-Cy5.5 Ab) durante 25 minutos a 4°C. Las células teñidas se fijaron en disolución de Cytofix/Cytoperm durante 30 minutos a 4°C, y se almacenaron en PBS hasta el análisis de citometría de flujo mediante FACSCanto (BD Biosciences).

40 A partir del modelo crónico inducido por APD de asma eosinófila (AE), se recogieron los lóbulos del pulmón izquierdo de 4 ratones por grupo para análisis de micromatriz de la expresión génica usando tecnología GeneChip®. Los niveles de expresión génica en los ratones que se sensibilizaron y probaron con APD y se trataron después con control de isotipo Ab se compararon con los niveles de expresión génica en ratones que se sensibilizaron de forma simulada (PBS) y se probaron y no se sometieron a tratamiento de anticuerpo. El umbral para un cambio en la expresión génica se fijó a >1,5 veces. La población de genes identificados como que se expresan de forma diferencial en ratones que se sensibilizaron y probaron con ADP se analizaron entonces adicionalmente en el grupo tratado con anti-IL-4Rα respecto al grupo tratado con control de isotipo. El umbral para un cambio en la expresión génica en el grupo tratado con IL-4Rα-Ab respecto al grupo tratado con control de isotipo se fijó en >2 veces.

Resultados

55 La sensibilización con APD y prueba dio por resultado niveles aumentados de IgE e IgG1 específico de APD. El aumento de IgE se bloqueó completamente por ambos anti-IL-4Rα Abs, pero no por el tratamiento de IL-13Rα2-Fc (Figuras 27A y 27B); los niveles de IgG1 específicos de APD no estuvieron afectados por ningún tratamiento (datos no mostrados).

La sensibilización con APD y prueba también provocó un aumento en el contenido de colágeno en los pulmones de los ratones. El contenido de colágeno en los pulmones de los ratones tratados tanto con IL-4Rα Abs como con

proteína IL-13R α 2-Fc se redujo a niveles observados en los ratones sensibilizados de forma simulada y probados (Figuras 28A y 28B).

Además, el tratamiento con mAb1 evitó el influjo de eosinófilos, neutrófilos y células dendríticas inflamatorias en el pulmón (Figura 29, Paneles A y B).

- 5 El análisis de la micromatriz de ARNm aislada del tejido pulmonar de ratones IL-4^{hu/hu}IL-4R α ^{hu/hu} inducidos por APD que se trataron con un anticuerpo de control de isotipo reveló la expresión diferencial de 1468 genes (826 genes sobre-regulados y 642 genes reducidos) en comparación con los ratones sensibilizados de forma simulada y probados de forma simulada. El tratamiento con mAb1 de ratones IL-4^{hu/hu}IL-4R α ^{hu/hu} inducidos por APD dio por resultado cambios en la expresión de solo 521 genes (en comparación con los ratones sensibilizados/probados de forma simulada), bloqueando de forma efectiva aproximadamente el 65% de genes afectados por la sensibilización/prueba con APD (cambio de >1,5 veces, $p < 0,05$). De particular interés es el descubrimiento de que mAb1 medió la disminución de la expresión génica de varios miembros de la familia de la citoquina IL-1, específicamente IL-1 α (2,9 veces), IL-133 (2,6 veces) y proteína de unión a IL-18 (1,5 veces). La expresión génica de IL-1 β no aumentó en el grupo tratado con control de isotipo, inducido por APD (en comparación con los ratones sensibilizados de forma simulada), pero se disminuyó (1,5 veces) en los grupos tratados con mAb1. La expresión génica de citoquinas inflamatorias Th1 IL-12 β e IFN- γ se redujo también por mAb1 en comparación con el grupo tratado con control de isotipo. De forma notable, ocho ligandos de quimiocina que codifican genes implicados en la migración y tráfico celular se redujeron en el grupo tratado con mAb1 cuando se compara con el grupo tratado con control de isotipo: Ccl11 (reducción de ~9 veces), Ccl8 y Cxcl2 (ambos con reducción de ~5 veces), Cxcl1, Ccl7, Ccl6 (todos con reducción de ~3 veces), Ccl2 y Ccl9 (reducción de aproximadamente 2 veces).

Conclusiones

Este ejemplo muestra que el bloqueo de la señalización de IL-4 por medio de los receptores Tipo I y Tipo II mediante anticuerpos anti-IL-4R α suprime los cambios inflamatorios y fibróticos en los pulmones de ratones probados con APD además de los cambios de firma genética conducidos por APD.

- 25 Otras realizaciones están en las reivindicaciones.

LISTADO DE SECUENCIAS

- <110> Marius Ardeleanu
- Namita Gandhi
- Neil Graham
- 5 Stephane C. Kirkesseli
- Sudeep Kundu
- Allen Radin
- Ross E. Rocklin
- Steven Weinstein
- 10 Jennifer Davidson Hamilton
- Jeffrey Ming
- <120> Métodos para tratar o prevenir el asma administrando un antagonista de IL-4R
- <130> Documento US2012/080-WO-PCT
- <140> A asignar
- 15 <141> Presentado en la presente
- <150> Documento US 61/691.625
- Documento US 61/758.097
- Documento US 61/761.279
- Documento US 61/783.796
- 20 Documento US 61/805.797
- Documento FR 1356994
- <151> 21-08-2012
- 29-01-2013
- 06-02-2013
- 25 14-03-2013
- 27-03-2013
- 16-07-2013
- <160> 275
- <170> FastSEQ para Windows versión 4.0
- 30 <210> 1
- <211> 351
- <212> ADN
- <213> Secuencia artificial
- <220>
- 35 <223> Sintética
- <400> 1

```

cagggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccttccgc tcttatggca tgcactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcggtc atatcatatg atggaagtaa taaatattat 180
atagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgaat 240
ctgcaaataa acagcctgag acttgaggac acggctgtat attactgtgc gaaagagggg 300
aggggggggat ttgactactg gggccaggga atcccgggtca ccgtctcctc a 351

```

<210> 2

<211> 117

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<400> 2

```

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

```

10 <210> 3

<211> 24

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Sintética

<400> 3

ggattcacct tccgtcttta tggc 24

<210> 4

<211> 8

20 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<400> 4

25 Gly Phe Thr Phe Arg Ser Tyr Gly
1 5

<210> 5

<211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 5 <223> Sintética
 <400> 5
 atatcatatg atggaagtaa taaa 24
 <210> 6
 <211> 8
 10 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sintética
 <400> 6
 Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys
 15 1 5
 <210> 7
 <211> 30
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 20 <220>
 <223> Sintética
 <400> 7
 gcgaaagagg ggaggggggg atttgactac 30
 <210> 8
 25 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sintética
 30 <400> 8
 Ala Lys Glu Gly Arg Gly Gly Phe Asp Tyr
 1 5 10
 <210> 9
 <211> 324
 <212> ADN
 35 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<400> 9

```
gacatccaga tgacccagtc tccatcctca ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgtc gggcgagtc ggtcataaac aattatttag cctggtttca gcagaaacca 120
gggaaagtcc ctaagtccct gatccatgct gcatccagtt tacaaagtgg ggtcccatca 180
aagttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gaagattttg caacttatta ctgccaacag tataatagtc acccgtggac gttcggccaa 300
gggaccaagg tggaaatcaa acga 324
```

5 <210> 10

<211> 108

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> Sintética

<400> 10

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

<210> 11

15 <211> 18

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

20 <400> 11

caggtcataa acaattat 18

<210> 12

<211> 6

<212> PRT

25 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<400> 12

Gln Val Ile Asn Asn Tyr
 1 5
 <210> 13
 <211> 9
 <212> ADN
 5 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sintética
 <400> 13
 gctgcatcc 9
 10 <210> 14
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 15 <223> Sintética
 <400> 14
 Ala Ala Ser
 1
 <210> 15
 <211> 27
 20 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sintética
 <400> 15
 25 caacagtata atagtcaccc gtggacg 27
 <210> 16
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 30 <220>
 <223> Sintética
 <400> 16
 Gln Gln Tyr Asn Ser His Pro Trp Thr
 1 5
 <210> 17
 35 <211> 351

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

5 <400> 17

```
cagggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccttccgc tcttatggca tgcactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcggtc atatcatatg atggaagtaa taaatattat 180
atagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cagctgaat 240
ctgcaaataga acagcctgag acttgaggac acggctgtat attactgtgc gaaagagggg 300
aggggggggat ttgactactg gggccaggga accctgggtca ccgtctcctc a 351
```

<210> 18

<211> 117

<212> PRT

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<400> 18

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

15 <210> 19

<211> 321

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

20 <223> Sintética

<400> 19

```
gacatccaga tgaccagtc tccatcctca ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgtc gggcgagtc ggtcataaac aattatttag cctggtttca gcagaaacca 120
gggaaaagtc ctaagtccct gatccatgct gcatccagtt tacaaagtgg ggtcccatca 180
aagttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gaagattttg caacttatta ctgccaacag tataatagtc acccgtggac gttcggccaa 300
gggaccaagg tggaaatcaa a 321
```

<210> 20

<211> 107

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

5 <400> 20

```

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1           5           10           15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Val Ile Asn Asn Tyr
          20           25           30
Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Ser Leu Ile
          35           40           45
His Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Lys 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 Asn Ser His Pro Trp
          85           90           95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
          100           105

```

<210> 21

<211> 351

<212> ADN

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<400> 21

```

cagggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccttccgc tcttatggca tgcactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatcatatg atggaagtaa taaatactat 180
gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agctgaggac acggctgtgt attactgtgc gaaagagggg 300
aggggggggat ttgactactg gggccaggga accctgggtca cegtctcctc a 351

```

15 <210> 22

<211> 117

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

20 <223> Sintética

<400> 22

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

<210> 23

<211> 322

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<400> 23

gacatccaga tgaccagtc tccatcctca ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgtc gggcgagtc ggtcataaac aattatttag cctggtttca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaagtccct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
 aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
 gaagattttg caacttatta ctgccaacag tataatagtc acccgtggac gttcggccaa 300
 gggaccaagg tggaaatcaa ac 322

10 <210> 24

<211> 107

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Sintética

<400> 24

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 Val Ile Asn Asn Tyr
 20 25 30
 Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly 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 Asn Ser His Pro Trp
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 25

<211> 351

20 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<400> 25

```

cagggtgcagc tgggtggagtc tgggggagggc gtgggtccagc ctggggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccttcaga agctatggca tacactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatcatatg atggaagtaa taaatactat 180
gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacactgtat 240
ctgcaaatga acagcctgat aactgaggac acggctgtgt attattgtgt gaaagagggg 300
5 aggggggggt ttgactactg gggccaggga accacgggtc ccgtctcctc a 351

```

<210> 26

<211> 117

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

10 <220>

<223> Sintética

<400> 26

```

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

```

<210> 27

15 <211> 24

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

20 <400> 27

```

ggattcacct tcagaagcta tggc      24

```

<210> 28

<211> 8

<212> PRT

25 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<400> 28
 Gly Phe Thr Phe Arg Ser Tyr Gly
 1 5
 <210> 29
 <211> 24
 5 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sintética
 <400> 29
 10 atatcatatg atggaagtaa taaa 24
 <210> 30
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 15 <220>
 <223> Sintética
 <400> 30
 Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys
 1 5
 <210> 31
 20 <211> 30
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sintética
 25 <400> 31
 gtgaaagagg ggaggggggg gtttgactac 30
 <210> 32
 <211> 10
 <212> PRT
 30 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sintética
 <400> 32
 Val Lys Glu Gly Arg Gly Gly Phe Asp Tyr
 1 5 10
 35 <210> 33

<211> 324

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

5 <223> Sintética

<400> 33

```
gacatccaga tgacccagtc tccatcctca ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgtc gggcgagtc ggtcattaat aattatttag cctggtttca gcagaaacca 120
gggaaagtcc ctaagtccct gatccatgct gcatccagtt tgcaaagagg ggtcccatca 180
aagttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccatcaacag cctgcagcct 240
gaagattttg caacttatta ctgccaacaa tataatagtt acccgtggac gttcggccaa 300

gggaccaagg tggaaatcaa acga 324
```

<210> 34

10 <211> 108

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

15 <400> 34

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

<210> 35

<211> 18

<212> ADN

20 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<400> 35

caggtcatta ataattat 18

25 <210> 36

<211> 6

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintética
 <400> 36
 Gln Val Ile Asn Asn Tyr
 1 5
 5 <210> 37
 <211> 9
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 10 <223> Sintética
 <400> 37
 gctgcatcc 9
 <210> 38
 <211> 3
 15 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sintética
 <400> 38
 Ala Ala Ser
 20 1
 <210> 39
 <211> 27
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 25 <220>
 <223> Sintética
 <400> 39
 caacaatata atagttaccc gtggacg 27
 <210> 40
 30 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sintética
 35 <400> 40

Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Trp Thr
1 5

<210> 41

<211> 351

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<400> 41

```
cagggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccttcaga agctatggca tacactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatcatatg atggaagtaa taaatactat 180
gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacactgtat 240
ctgcaaatga acagcctgat aactgaggac acggctgtgt attattgtgt gaaagagggg 300
aggggggggt ttgactactg gggccaggga accctgggtca ccgtctcctc a 351
```

10 <210> 42

<211> 117

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Sintética

<400> 42

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

<210> 43

20 <211> 321

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

25 <400> 43


```

gacatccaga tgaccagtc tccatcctca ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgctc gggcgagtc ggtcattaat aattatttag cctgggttca gcagaaacca 120
gggaaagtcc ctaagtccct gatccatgct gcatccagtt tgcaaagagg ggtcccatca 180
aagttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccatcaacag cctgcagcct 240
gaagattttg caacttatta ctgccaacaa tataatagtt acccgtggac gttcggccaa 300
gggaccaagg tggaaatcaa a 321

```

<210> 44

<211> 107

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<400> 44

```

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

```

10 <210> 45

<211> 351

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Sintética

<400> 45

```

caggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccttcaga agctatggca tgcaactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatcatatg atggaagtaa taaatactat 180
gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agctgaggac acggctgtgt attactgtgt gaaagagggg 300
aggggggggt ttgactactg gggccaggga accctggtca ccgtctcctc a 351

```

<210> 46

<211> 117

20 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<400> 46

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

<210> 47

<211> 322

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<400> 47

gacatccaga tgaccagtc tccatcctca ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgtc gggcgagtc ggtcattaat aattatttag cctggtttca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaagtcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
 aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
 gaagattttg caacttatta ctgccaaaca tataatagtt acccgtggac gttcggccaa 300
 gggaccaagg tggaaatcaa ac 322

10 <210> 48

<211> 107

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Sintética

<400> 48

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Val Ile Asn Asn Tyr
 20 25 30
 Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly 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 Asn Ser Tyr Pro Trp
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 49

20 <211> 375

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

5 <400> 49

```
cagggtgcagc tgggtggagtc tgggggagggc ttggaacagc cggggggggtc cttgagactc 60
tcctgtgcag gctctggatt cacgtttaga gactatgccg tgacctgggt ccgccagggt 120
ccaggggaagg ggctggagtg ggtcgcatcg attagtgggt cgggtggtaa cacatacttc 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaataa acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagatcga 300
ctctctataa caattcgccc acgctattat ggtttggacg tctggggcca aggggtccacg 360
gtcaccgtct cctca 375
```

<210> 50

<211> 125

<212> PRT

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<400> 50

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

15 <210> 51

<211> 24

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

20 <223> Sintética

<400> 51

ggattcacgt ttagagacta tgcc 24

<210> 52

<211> 8

25 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintética
 <400> 52
 Gly Phe Thr Phe Arg Asp Tyr Ala
 1 5
 5 <210> 53
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 10 <223> Sintética
 <400> 53
 attagtgggt cccgtggtta caca 24
 <210> 54
 <211> 8
 15 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sintética
 <400> 54
 Ile Ser Gly Ser Gly Gly Asn Thr
 1 5
 20 <210> 55
 <211> 54
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 25 <220>
 <223> Sintética
 <400> 55
 gcgaaagatc gactctctat aacaattcgc ccacgctatt atggtttga cgtc 54
 <210> 56
 30 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sintética
 35 <400> 56

Ala Lys Asp Arg Leu Ser Ile Thr Ile Arg Pro Arg Tyr Tyr Gly Leu
 1 5 10 15
 Asp Val

<210> 57

<211> 324

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<400> 57

gacatccaga tgacccagtc tccatcctca ctgtctgcat ctgttgaga cagagtcacc 60
 atcacttgct gggcgagtca ggccattaac aatcatttag cctgggttca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaagtcctt gatctttgct gtatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
 aagttcagcg gcagtggatc tgggacagac ttactcttca ccatcagcag cctgcagcct 240
 gaagattttg caacttatta ctgccaacag tataatagtt acccgtggac gttcggccaa 300
 gggaccaagg tggaaatcaa acga 324

10 <210> 58

<211> 108

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Sintética

<400> 58

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ala Ile Asn Asn His
 20 25 30
 Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile
 35 40 45
 Phe Ala Val Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Lys 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 Asn Ser Tyr Pro Trp
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
 100 105

<210> 59

<211> 18

20 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<400> 59

25 caggccatta acaatcat 18

<210> 60

<211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 5 <223> Sintética
 <400> 60
 Gln Ala Ile Asn Asn His
 1 5
 <210> 61
 <211> 9
 10 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sintética
 <400> 61
 15 gctgtatcc 9
 <210> 62
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 20 <220>
 <223> Sintética
 <400> 62
 Ala Val Ser
 1
 <210> 63
 25 <211> 27
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sintética
 30 <400> 63
 caacagtata atagttaccc gtggacg 27
 <210> 64
 <211> 9
 <212> PRT
 35 <213> Secuencia artificial
 <220>

<223> Sintética

<400> 64

Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Trp Thr
1 5

<210> 65

5 <211> 372

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

10 <400> 65

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggaacagc cggggggggtc cttgagactc 60
tcctgtgcag gctctggatt cacgtttaga gactatgccg tgacctgggt ccgccaggct 120
ccaggaagg ggtctggagt ggtcgcatcg attagtgggt ccggtggtaa cacatacttc 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagatcga 300
ctctctataa caattcgccc acgctattat ggtttggacg tctggggcca agggaccacg 360
gtcaccgtct cc 372

<210> 66

<211> 124

<212> PRT

15 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<400> 66

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

20 <210> 67

<211> 321

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

25 <223> Sintética

<400> 67

```
gacatccaga tgacccagtc tccatcctca ctgtctgcat ctgttggaga cagagtcacc 60
atcacttgtc gggcgagtc gccattaac aatcatttag cctgggtttca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagtcctt gatctttgct gtatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aagttcagcg gcagtggatc tgggacagac ttactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gaagattttg caacttatta ctgccaacag tataatagtt acccgtggac gttcggccaa 300
gggaccaagg tggaaatcaa a 321
```

<210> 68

<211> 107

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<400> 68

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

10

<210> 69

<211> 373

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

15 <220>

<223> Sintética

<400> 69

```
gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt cacgtttaga gactatgcc a tgagctgggt ccgccaggct 120
ccaggaagg ggcctggagt ggtctcagct attagtgggt ccggtggtaa cacatactac 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagatcga 300
ctctctataa caattcgccc acgctattat ggtttgagc tctggggcca agggaccacg 360
gtcaccgtct cct 373
```

<210> 70

20 <211> 124

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<400> 70

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

<210> 71

<211> 322

5 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<400> 71

gacatccaga	tgaccagtc	tccatcctca	ctgtctgcat	ctgtaggaga	cagagtcacc	60
atcacttgtc	gggcgagtc	ggccattaac	aatcatttag	cctggtttca	gcagaaacca	120
gggaaagccc	ctaagtccct	gatctatgct	gtatccagtt	tgcaaagtgg	ggtcccatca	180
agggtcagcg	gcagtggatc	tgggacagat	ttcactctca	ccatcagcag	cctgcagcct	240
gaagattttg	caacttatta	ctgccaacag	tataatagtt	acccgtggac	gttcggccaa	300
gggaccaagg	tggaatcaa	ac				322

10

<210> 72

<211> 107

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15 <220>

<223> Sintética

<400> 72

Asp	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly
1				5				10					15		
Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Arg	Ala	Ser	Gln	Ala	Ile	Asn	Asn	His
		20						25				30			
Leu	Ala	Trp	Phe	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Ser	Leu	Ile
		35					40					45			
Tyr	Ala	Val	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	Asn	Ser	Tyr	Pro	Trp
				85				90					95		
Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys					
			100					105							

<210> 73

20 <211> 375

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

5 <400> 73

```
cagggtgcagc tgggtggagtc tgggggagggc ttggaacagc cggggggggtc cttgagactc 60
tcctgtgcag gctctggatt cacgtttaga gactatgccg tgacctgggt ccgccagggt 120
ccaggggaagg ggctggagtg ggtcgcatcg attagtgggt ccggtggtaa cacatacttc 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaataa acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagatcga 300
ctctctataa caattcgccc acgctattat ggtttggacg tctggggcca aggggtccacg 360
gtcaccgtct cctca 375
```

<210> 74

<211> 125

<212> PRT

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<400> 74

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

15 <210> 75

<211> 24

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

20 <223> Sintética

<400> 75

ggattcacgt ttagagacta tgcc 24

<210> 76

<211> 8

25 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintética
 <400> 76
 Gly Phe Thr Phe Arg Asp Tyr Ala
 1 5
 5 <210> 77
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 10 <223> Sintética
 <400> 77
 attagtgggt cgggtggtaa caca 24
 <210> 78
 <211> 8
 15 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sintética
 <400> 78
 Ile Ser Gly Ser Gly Gly Asn Thr
 1 5
 20 <210> 79
 <211> 54
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 25 <220>
 <223> Sintética
 <400> 79
 gcgaaagatc gactctctat aacaattcgc ccacgctatt atggtttga cgtc 54
 <210> 80
 30 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sintética
 35 <400> 80

Ala Lys Asp Arg Leu Ser Ile Thr Ile Arg Pro Arg Tyr Tyr Gly Leu
1 5 10 15

Asp Val

<210> 81

<211> 339

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<400> 81

gaaatagtgt tgacgcagtc tccactctcc ctgcccgtca cccctggaga gccggcctcc 60
atctcctgca ggtctagtca ggcctcctg tatagtattg gatacaacta tttggattgg 120
tacctgcaga agtcagggca gtctccacag ctcttatct atttgggttc taatcgggcc 180
tccgggggtcc ctgacaggtt cagtggcagt ggatcaggca cagattttac actgaaaatc 240
agcagagtgg aggctgagga tgttgggttt tattactgca tgcaagctct acaaactccg 300
tacacttttg gcccggggac caagctggag atcaaacga 339

10 <210> 82

<211> 113

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Sintética

<400> 82

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

<210> 83

20 <211> 33

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

25 <400> 83

cagagcctcc tgtatagtat tggatacaac tat 33

<210> 84
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 5 <220>
 <223> Sintética
 <400> 84
 Gln Ser Leu Leu Tyr Ser Ile Gly Tyr Asn Tyr
 1 5 10
 <210> 85
 10 <211> 9
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sintética
 15 <400> 85
 ttgggtct 9
 <210> 86
 <211> 3
 <212> PRT
 20 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sintética
 <400> 86
 Leu Gly Ser
 1
 25 <210> 87
 <211> 27
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 30 <223> Sintética
 <400> 87
 atgcaagctc taaaactcc gtacact 27
 <210> 88
 <211> 9
 35 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<400> 88

Met Gln Ala Leu Gln Thr Pro Tyr Thr
1 5

5 <210> 89

<211> 372

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> Sintética

<400> 89

gaggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc ttggaacagc cggggggggtc cttgagactc 60
tcctgtgcag gctctggatt cacgtttaga gactatgcca tgacctgggt ccgccaggct 120
ccagggaagg ggctggagtg ggctcgcatcg attagtgggt ccgggtggtaa cacatacttc 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagatcga 300
ctctctataa caattcgccc acgctattat ggtttggacg tctggggcca agggaccacg 360
gtcaccgtct cc 372

<210> 90

<211> 124

15 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<400> 90

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

20 <210> 91

<211> 336

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

25 <220>

<223> Sintética

<400> 91

```
gatattgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgta cccctggaga gccggcctcc 60
atctcctgca ggtctagtca gagcctcctg tatagtattg gatacaacta tttggattgg 120
tacctgcaga agtcagggca gtctccacag ctcccttatct atttgggttc taatcgggcc 180
tccgggggtcc ctgacaggtt cagtggcagt ggatcaggca cagattttac actgaaaatc 240
agcagagtgg aggctgagga tgttgggttt tattactgca tgcaagctct acaaactccg 300
tacacttttg gcccggggac caagctggag atcaaaa 336
```

<210> 92

5 <211> 112

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

10 <400> 92

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

<210> 93

<211> 373

<212> ADN

15 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<400> 93

```
gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggagggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt cacgtttaga gactatgcc a tgagctgggt ccgccaggct 120
ccaggaagg ggcctggagt ggtctcagct attagtgggt ccggtggtaa cacatactac 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cagctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagatcga 300
ctctctataa caattcgccc acgctattat ggtttggacg tctggggcca agggaccacg 360
gtcaccgtct cct 373
```

20 <210> 94

<211> 124

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<400> 94

```

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

```

<210> 95

5 <211> 337

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

10 <400> 95

```

gatattgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgtca cccctggaga gccggcctcc 60
atctcctgca ggtctagtca gagcctcctg tatagtattg gatacaacta tttggattgg 120
tacctgcaga agccagggca gtctccacag ctctgatct atttgggttc taatcgggcc 180
tccggggtcc ctgacaggtt cagtggcagt ggatcaggca cagattttac actgaaaatc 240
agcagagtgg aggctgagga tgttggggtt tattactgca tgcaagctct acaaactccg 300
tacacttttg gccaggggac caagctggag atcaaac 337

```

<210> 96

<211> 112

<212> PRT

15 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<400> 96

```

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

```

20 <210> 97

<211> 375

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

5 <223> Sintética

<400> 97

```
caggtgcagc tgggtggagtc tgaggggactc ttggaacagc ctgggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caactttaga gactttgccg tgacctgggt ccgccaggct 120
ccaggaagg ggtctggagt ggtctcatct attagtggta gtggtagtaa tacatactac 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaacca cagctgtat 240
ctgcgaatga acagcctgag agccgaagac acggccgtgt attactgtgc gaaagatcga 300
ctctctataa caattcgccc acgctattac ggtctggacg tctggggcca aggggtccacg 360
gtcaccgtct cctca 375
```

<210> 98

<211> 125

10 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<400> 98

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

15

<210> 99

<211> 24

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

20 <220>

<223> Sintética

<400> 99

ggattcaact ttagagactt tgcc 24

<210> 100

25 <211> 8

<212> PRT

	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Sintética	
	<400> 100	
5	Gly Phe Asn Phe Arg Asp Phe Ala 1 5	
	<210> 101	
	<211> 24	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
10	<220>	
	<223> Sintética	
	<400> 101	
	attagtgga gtggtagtaa taca 24	
	<210> 102	
15	<211> 8	
	<212> PRT	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Sintética	
20	<400> 102	
	Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asn Thr 1 5	
	<210> 103	
	<211> 54	
	<212> ADN	
25	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Sintética	
	<400> 103	
	gcgaaagatc gactcttat aacaattcgc ccacgctatt acgggtctgga cgtc 54	
30	<210> 104	
	<211> 18	
	<212> PRT	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
35	<223> Sintética	
	<400> 104	

Ala Lys Asp Arg Leu Ser Ile Thr Ile Arg Pro Arg Tyr Tyr Gly Leu
1 5 10 15
Asp Val

<210> 105

<211> 324

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<400> 105

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcgagtca ggacattagc aattatittg cctgggtatca gcagaagcca 120
gggaaagtcc ctaagctcct gatctttgct gcatccactt tgcattccagg ggtcccatct 180
cggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccattcgag cctgcagcct 240
gaagatgttg caacttatta ctgtcaaaaa tatgacagtg ccccgtagac ttttggccag 300
gggaccaagg tggaaatcaa acga 324

10 <210> 106

<211> 108

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Sintética

<400> 106

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

<210> 107

<211> 18

20 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<400> 107

25 caggacatta gcaattat 18

<210> 108

<211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 5 <223> Sintética
 <400> 108
 Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
 1 5
 <210> 109
 <211> 9
 10 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sintética
 <400> 109
 15 gctgcatcc 9
 <210> 110
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 20 <220>
 <223> Sintética
 <400> 110
 Ala Ala Ser
 1
 25 <210> 111
 <211> 27
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 30 <223> Sintética
 <400> 111
 caaaaatatg acagtgcgcc gtacact 27
 <210> 112
 <211> 9
 35 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<400> 112

Gln Lys Tyr Asp Ser Ala Pro Tyr Thr
1 5

5 <210> 113

<211> 372

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> Sintética

<400> 113

```
gagggtgcagc  tgggtggagtc  tgaggggactc  ttggaacagc  ctgggggggtc  cctgagactc  60
tcctgtgcag  cctctggatt  caactttaga  gactttgcc  tgacctgggt  ccgccagggt  120
ccagggaagg  ggctggagtg  ggtctcatct  attagtggta  gtggtagtaa  tacatactac  180
gcagactccg  tgaagggccg  gttcaccatc  tccagagaca  attccaacca  cacgctgtat  240
ctgcgaatga  acagcctgag  agccgaagac  acggccgtgt  attactgtgc  gaaagatcga  300
ctctctataa  caattcgccc  acgctattac  ggtctggacg  tctggggcca  agggaccacg  360
gtcaccgtct  cc  372
```

<210> 114

<211> 124

15 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<400> 114

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

20 <210> 115

<211> 321

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

25 <220>

<223> Sintética

<400> 115

```
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcgagtc ggacattagc aattatcttg cctgggtatca gcagaagcca 120
gggaaagtcc ctaagctcct gatctttgct gcatccactt tgcattccagg ggtcccatct 180
cggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcaactctca ccattcgcag cctgcagcct 240
gaagatgttg caacttatta ctgtcaaaaa tatgacagtg ccccgtagac ttttggccag 300
gggaccaagc tggagatcaa a 321
```

<210> 116

5 <211> 107

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

10 <400> 116

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

<210> 117

<211> 373

<212> ADN

15 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<400> 117

```
gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caactttaga gactttgccg tgagctgggt ccgccaggct 120
ccaggaagg ggcctggagt ggtctcagct attagtggta gtggtagtaa tacatactac 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagatcga 300
ctctctataa caattcgccc acgctattac ggtctggacg tctggggcca agggaccacg 360
gtcaccgtct cct 373
```

20 <210> 118

<211> 124

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<400> 118

```

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

```

<210> 119

5 <211> 322

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

10 <400> 119

```

gacatccaga tgaccagatc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcgagatc ggacattagc aattatttag cctgggtatca gcagaaacca 120
gggaaagtgc ctaagctcct gatctatgct gcatccactt tgcaatcagg ggtcccatct 180
cggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gaagatgttg caacttatta ctgtcaaaaa tatgacagtg ccccgtagac ttttggccag 300
gggaccaagc tggagatcaa ac                                     322

```

<210> 120

<211> 107

<212> PRT

15 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<400> 120

```

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1           5           10           15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
      20           25           30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Leu Ile
      35           40           45
Tyr Ala Ala Ser Thr 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 Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Lys Tyr Asp Ser Ala Pro Tyr
      85           90           95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
      100          105

```

20 <210> 121

<211> 357

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

5 <223> Sintética

<400> 121

```
caggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgtag cttctggatt cacccttaac aactttgtca tgaactgggt ccgccagggt 120
ccaggaagg gactggagt ggtctctttt attagtgtta gtggtggtat tatatactac 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca ctccaagaa cacattatat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgacgac acggccgtct attactgtgc gaaatccccg 300
tataactgga acccctttga ctattggggc caggaacca cggtcaccgt ctcctca 357
```

<210> 122

<211> 119

10 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<400> 122

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

15 Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 123

<211> 24

<212> ADN

20 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<400> 123

ggattcaccc ttaacaact tgtc 24

25 <210> 124

<211> 8

<212> PRT

<213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sintética
 <400> 124
 Gly Phe Thr Leu Asn Asn Phe Val
 5 1 5
 <210> 125
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 10 <220>
 <223> Sintética
 <400> 125
 attagtgccta gtggtgtag tata 24
 <210> 126
 15 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sintética
 20 <400> 126
 Ile Ser Ala Ser Gly Gly Ser Ile
 1 5
 <210> 127
 <211> 36
 <212> ADN
 25 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sintética
 <400> 127
 gcgaaatccc cgtataactg gaacccttt gactat 36
 30 <210> 128
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 35 <223> Sintética
 <400> 128

Ala Lys Ser Pro Tyr Asn Trp Asn Pro Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 129

<211> 327

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<400> 129

gacatccagt tgaccagtc tccagccacc ctgtctgtgt ctccagggga acgagccacc 60
ctctcctgca gggccagtct gagggttagc agcaaattag cctggtacca gcagacacct 120
ggccaggctc ccagactcct catctatagt gcctccacc ggccactgg tatcccagtc 180
aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagag ttcactctca ccatcagcag cctgcagtct 240
gaagattttg cggtttatta ctgtcagcag tataatcatt ggcctccgta cacttttggc 300
caggggacca aggtggagat caaacga 327

10 <210> 130

<211> 109

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Sintética

<400> 130

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

<210> 131

<211> 18

20 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<400> 131

25 ctgagtgta gcagcaaa 18

<210> 132

<211> 6

<212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sintética
 5 <400> 132
 Leu Ser Val Ser Ser Lys
 1 5
 <210> 133
 <211> 9
 <212> ADN
 10 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sintética
 <400> 133
 agtcctcc 9
 15 <210> 134
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 20 <223> Sintética
 <400> 134
 Ser Ala Ser
 1
 <210> 135
 <211> 30
 25 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sintética
 <400> 135
 30 cagcagtata atcattggcc tccgtacact 30
 <210> 136
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 35 <220>
 <223> Sintética

<400> 136

Gln Gln Tyr Asn His Trp Pro Pro Tyr Thr
1 5 10

<210> 137

<211> 357

5 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<400> 137

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggc cctgagactc 60
tcctgtgtag cttctggatt cacccttaac aactttgtca tgaactgggt ccgccagggt 120
ccaggaagg gactggagtg ggtctctttt attagtgtca gtgggtgtag tatatactac 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca cttccaagaa cacattatat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgacgac acggccgtct attactgtgc gaaatccccg 300
10 tataactgga acccctttga ctattggggc caggggaacc tggtcaccgt ctctca 357

<210> 138

<211> 119

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15 <220>

<223> Sintética

<400> 138

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

<210> 139

20 <211> 324

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

25 <400> 139

```

gaaatagtga tgacgcagtc tccagccacc ctgtctgtgt ctccagggga acgagccacc 60
ctctcctgca gggccagtct gactgttagc agcaaattag cctggtacca gcagacacct 120
ggccaggctc ccagactcct catctatagt gcctccaccc gggccactgg tatcccagtc 180
aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagag ttactctca ccatcagcag cctgcagtct 240
gaagattttg cggtttatta ctgtcagcag tataatcatt ggctccgta cacttttggc 300
caggggacca agctggagat caaa 324

```

<210> 140

<211> 108

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<400> 140

```

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

```

10 <210> 141

<211> 357

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Sintética

<400> 141

```

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt cacccttaac aactttgtca tgagctgggt ccgccaggct 120
ccaggaagg ggtctgagtg ggtctcagct attagtgtca gtggtggtag tatatactac 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaatccccg 300
tataactgga acccctttga ctattggggc caggaaccc tggtcaccgt ctcctca 357

```

<210> 142

<211> 119

20 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<400> 142

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

<210> 143

<211> 325

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<400> 143

gaaatagtga tgacgcagtc tccagccacc ctgtctgtgt ctccagggga aagagccacc 60
 ctctcctgca gggccagtcct gagggttagc agcaaattag cctggtacca gcagaaacct 120
 ggccaggctc ccaggctcct catctatagt gcctccacca gggccactgg tatcccagcc 180
 aggttcagtg gcagtggtgc tgggacagag ttcactctca ccatcagcag cctgcagtc 240
 gaagattttg cagtttatta ctgtcagcag tataatcatt ggcctccgta cacttttggc 300
 caggggacca agctggagat caaac 325

10 <210> 144

<211> 108

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Sintética

<400> 144

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

<210> 145

<211> 375

20 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<400> 145

```

cagggtgcagc tgggtggagtc tgggggagggc ttggaacagc cggggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag gctctggatt cacctttaga gactatgccg tgacctgggt ccgccaggct 120
ccagggaagg gactggagtg ggtctcatct attagtgggt ccggtggtaa cacatactac 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagatcga 300
ctctctataa caattcgccc acgctattat ggtttggacg tctggggcca aggggtccacg 360
5 gtcaccgtct cctca 375

```

<210> 146

<211> 125

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

10 <220>

<223> Sintética

<400> 146

```

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

```

<210> 147

15 <211> 24

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

20 <400> 147

```

ggattcacct ttagagacta tgcc      24

```

<210> 148

<211> 8

<212> PRT

25 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<400> 148

Gly Phe Thr Phe Arg Asp Tyr Ala
1 5

<210> 149

5 <211> 24

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

10 <400> 149

attagtgggt ccggtggtaa caca 24

<210> 150

<211> 8

<212> PRT

15 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<400> 150

Ile Ser Gly Ser Gly Gly Asn Thr
1 5

20 <210> 151

<211> 54

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

25 <223> Sintética

<400> 151

gcgaaagatc gactctctat aacaattcgc ccacgctatt atggtttga cgtc 54

<210> 152

<211> 18

30 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<400> 152

Ala Lys Asp Arg Leu Ser Ile Thr Ile Arg Pro Arg Tyr Tyr Gly Leu
1 5 10 15

35 Asp Val

<210> 153

<211> 339

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

5 <220>

<223> Sintética

<400> 153

```
gacatcgtgt tgacccagtc tccactctcc ctgcccgctca cccctggaga gccggcctcc 60
atctcctgca ggtctagtc gagcctcctg tatagtattg gatacaacta tttggattgg 120
tacctgcaga agtcagggca gtctccacag ctcttatct atttgggttc taatcgggcc 180
tccggggtcc ctgacagggt cagtggcagt ggatcaggca cagattttac actgaaaatc 240
agcagagtgg aggtgagga tgttgggttt tattactgca tgcaagctct acaaactccg 300
tacacttttg gccaggggac caagctggag atcaaacga 339
```

<210> 154

10 <211> 113

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

15 <400> 154

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

<210> 155

<211> 33

20 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<400> 155

25 cagagcctcc tgtatagtat tggatacaac tat 33

<210> 156

<211> 11

<212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sintética
 5 <400> 156
 Gln Ser Leu Leu Tyr Ser Ile Gly Tyr Asn Tyr
 1 5 10
 <210> 157
 <211> 9
 <212> ADN
 10 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sintética
 <400> 157
 ttgggttct 9
 15 <210> 158
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 20 <223> Sintética
 <400> 158
 Leu Gly Ser
 1
 <210> 159
 <211> 27
 25 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sintética
 <400> 159
 30 atgcaagctc tacaactcc gtacact 27
 <210> 160
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 35 <220>
 <223> Sintética

<400> 160

Met Gln Ala Leu Gln Thr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 161

<211> 372

5 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<400> 161

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggaacagc cgggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag gctctggatt cacctttaga gactatgccg tgacctgggt ccgccagggt 120
ccagggaagg gactggagtg ggtctcatct attagtgggt ccggtggtaa cacatactac 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaatac acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagatcga 300
ctctctataa caattcgccc acgctattat ggtttggacg tctggggcca agggaccacg 360
10 gtcaccgtct cc 372

<210> 162

<211> 124

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15 <220>

<223> Sintética

<400> 162

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

20 <210> 163

<211> 336

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

25 <223> Sintética

<400> 163

```

gacatcgtga tgaccagtc tocactctcc ctgcccgtca cccctggaga gccggcctcc 60
atctcctgca ggtctagtc gagcctcctg tatagtattg gatacaacta tttggattgg 120
tacctgcaga agtcagggca gtctccacag ctcttatctc atttgggttc taatcggggc 180
tccgggggtcc ctgacaggtt cagtggcagt ggatcaggca cagattttac actgaaaatc 240
agcagagtgg aggctgagga tgttgggttt tattactgca tgcaagctct acaaactccg 300
tacacttttg gccaggggac caagctggag atcaaaa 336

```

<210> 164

<211> 112

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<400> 164

```

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

```

10 <210> 165

<211> 373

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Sintética

<400> 165

```

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt cacctttaga gactatgccca tgagctgggt ccgccaggct 120
ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtgggt ccggtggtaa cacatactac 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagatcga 300
ctctctataa caattcgccc acgctattat ggtttggacg tctggggcca agggaccacg 360
gtcaccgtct cct 373

```

<210> 166

<211> 124

20 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<400> 166

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

<210> 167

<211> 337

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<400> 167

gatattgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgta cccctggaga gccggcctcc 60
 atctcctgca ggtctagtca ggcctcctg tatagtattg gatacaacta tttggattgg 120
 tacctgcaga agccagggca gtctccacag ctctgatct atttgggttc taatcggggc 180
 tccgggggtcc ctgacaggtt cagtggcagt ggatcaggca cagattttac actgaaaatc 240
 agcagagtgg aggctgagga tgttgggggtt tattactgca tgcaagctct acaaactccg 300
 tacacttttg gccaggggac caagctggag atcaaac 337

<210> 168

<211> 112

10 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<400> 168

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

100 105 110

<210> 169

<211> 375

<212> ADN

20 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<400> 169

```
cagggtgcagc  tgggtggagtc  tggggggagtc  ttggagcagc  ctgggggggtc  cctgagactc  60
tcctgtacag  cctctggatt  cacctttaga  gactatgcc  tgacctgggt  ccgccaggct  120
ccaggaagg  ggctggagtg  ggtctcatct  attagtggta  gtgggtggtaa  tacatactac  180
gcagactccg  tgagggggccg  gttcaccatc  tccagagaca  actccaacca  cacgctgtat  240
ctgcaaatga  acagcctgag  agccgaagac  acggccgtat  attactgtgc  gaaagatcga  300
ctctccataa  caattcgccc  acgctattac  ggtttgagc  tctggggcca  aggggccacg  360
gtcaccgtct  cctca  375
```

5 <210> 170

<211> 125

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> Sintética

<400> 170

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

<210> 171

<211> 24

15 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<400> 171

20 ggattcacct ttagagacta tgcc 24

<210> 172

<211> 8

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

25 <220>

<223> Sintética

<400> 172
 Gly Phe Thr Phe Arg Asp Tyr Ala
 1 5
 <210> 173
 <211> 24
 5 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sintética
 <400> 173
 10 attagtggta gtggtggtaa taca 24
 <210> 174
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 15 <220>
 <223> Sintética
 <400> 174
 Ile Ser Gly Ser Gly Gly Asn Thr
 1 5
 <210> 175
 20 <211> 54
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sintética
 25 <400> 175
 gcgaaagatc gactctccat aacaattcgc ccacgctatt acggtttgga cgtc 54
 <210> 176
 <211> 18
 <212> PRT
 30 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sintética
 <400> 176
 Ala Lys Asp Arg Leu Ser Ile Thr Ile Arg Pro Arg Tyr Tyr Gly Leu
 1 5 10 15
 Asp Val
 35 <210> 177

<211> 324

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

5 <223> Sintética

<400> 177

```
gatattgtga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
attacttgcc gggcgagtc ggacattagc aattatcttg cctgggtatca gcagaagcca 120
gggaaagtgc ctaaaactcct gatctttgct gcatccactt tgcattccagg ggtcccatct 180
cggttcagtg gcagtggtac tgggacagat ttcactctca ccattagtag cctgcagcct 240
gaagatgttg caacttatta ctgtcaaaag tataacagtg ccccgtagac ttttgccag 300
gggaccaagg tggaaatcaa acga 324
```

<210> 178

<211> 108

10 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<400> 178

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

15

<210> 179

<211> 18

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

20 <220>

<223> Sintética

<400> 179

caggacatta gcaattat 18

<210> 180

25 <211> 6

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintética
 <400> 180
 Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
 1 5
 5 <210> 181
 <211> 9
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 10 <223> Sintética
 <400> 181
 gctgcatcc 9
 <210> 182
 <211> 3
 15 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sintética
 <400> 182
 Ala Ala Ser
 20 1
 <210> 183
 <211> 27
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 25 <220>
 <223> Sintética
 <400> 183
 caaaagtata acagtcccc gtacact 27
 <210> 184
 30 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sintética
 35 <400> 184

Gln Lys Tyr Asn Ser Ala Pro Tyr Thr
1 5

<210> 185

<211> 372

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<400> 185

```
gagggtgcagc tgggtggagtc tggggggagtc ttgggagcagc ctgggggggtc cctgagactc 60
tcctgtacag cctctggatt cacctttaga gactatgccg tgacctgggt ccgccaggct 120
ccaggaagg ggcctggagtg ggtctcatct attagtggta gtgggtggtaa tacatactac 180
gcagactccg tgagggggccg gttcaccatc tccagagaca actccaacca cacgctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaagac acggccgtat attactgtgc gaaagatcga 300
ctctccataa caattcgccc acgctattac ggtttggacg tctggggcca agggaccacg 360
gtcacccgtct cc 372
```

10 <210> 186

<211> 124

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Sintética

<400> 186

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

<210> 187

<211> 321

20 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<400> 187

```

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
attacttgcc gggcgagtc ggacattagc aattatcttg cctgggtatca gcagaagcca 120
gggaaagtcc ctaaactcct gatctttgct gcatccactt tgcattccagg ggtcccatct 180
cggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttactcttca ccattagtag cctgcagcct 240
gaagatgttg caacttatta ctgtcaaaag tataacagtg ccccgtagac ttttggccag 300
gggaccaagc tggagatcaa a 321

```

<210> 188

<211> 107

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<400> 188

```

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1           5           10           15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
 20          25          30
Phe Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Leu Ile
 35          40          45
Phe Ala Ala Ser Thr Leu His Pro 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 Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Lys Tyr Asn Ser Ala Pro Tyr
 85          90          95

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

```

10

<210> 189

<211> 373

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

15 <220>

<223> Sintética

<400> 189

```

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt cacctttaga gactatgccg tgagctgggt ccgccaggct 120
ccagggaagg ggtctggagt ggtctcagct attagtggta gtgggtggtaa tacatactac 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cagctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagatcga 300
ctctccataa caattcgccc acgctattac ggtttggacg tctggggcca agggaccacg 360
gtcacctgtc cct 373

```

<210> 190

20 <211> 124

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

25 <400> 190

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

<210> 191

<211> 322

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<400> 191

gacatccaga tgaccagatc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgcc gggcgagtca ggacattagc aattatttag cctggatca gcagaaacca 120
 gggaaagtcc ctaagctcct gatctatgct gcatccactt tgcaatcagg ggtcccatct 180
 cggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
 gaagatgttg caacttatta ctgtcaaaag tataacagtg ccccgtagac ttttgccag 300
 gggaccaagc tggagatcaa ac 322

10 <210> 192

<211> 107

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Sintética

<400> 192

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Ala Ala Ser Thr 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 Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Lys Tyr Asn Ser Ala Pro Tyr
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 193

<211> 355

20 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<400> 193

```

gaagtgcacc tgggtggaatc tgggggagggc ttggtacagc ctggcaggtc cctgagactc 60
tcctgtgagg cctctggatt cacctttgat gattatgccg tgcactgggt ccggcaagct 120
ccggggaagg gcctggaatg ggtctcaggt cttagtccga caagtgtcag tataggctat 180
gcggaactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccctttat 240
ttggaaatga acagtctgag acctgaggac acggccttat attactgtgc aaaatggggg 300
5 acccgggggg attttgacta ctgggggccag ggaaccctgg tcaccgtctc ctcag      355

```

<210> 194

<211> 118

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

10 <220>

<223> Sintética

<400> 194

```

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

Ala Lys Trp Gly Thr Arg Gly Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100    105    110
Leu Val Thr Val Ser Ser
115

```

15 <210> 195

<211> 24

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

20 <223> Sintética

<400> 195

ggattcacct ttgatgatta tgcc 24

<210> 196

<211> 8

25 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<400> 196

Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ala
1 5

<210> 197

5 <211> 24

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

10 <400> 197

cttagtcgga caaggtcag tata 24

<210> 198

<211> 8

<212> PRT

15 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<400> 198

Leu Ser Arg Thr Ser Val Ser Ile
1 5

20 <210> 199

<211> 33

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

25 <223> Sintética

<400> 199

gcaaaatggg ggacccgggg gtatttgac tac 33

<210> 200

<211> 11

30 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<400> 200

Ala Lys Trp Gly Thr Arg Gly Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10

35

<210> 201

<211> 322

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

5 <220>

<223> Sintética

<400> 201

```
gacatccaga tgacccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtgggaga cagagtcacc 60
atcacttgtc gggcgagtc ggatattagt atttggttag cctgggtatca gcagagtcca 120
gggaaagccc ctaaactcct gatcaatgtt gcatcccggt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
agggtcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcaacag tctgcagcct 240
gaagattttg taacttacta ttgtcaacag gctaacagtt tcccgatcac cttcggccaa 300
gggacacgac tggcgaccaa ac 322
```

<210> 202

10 <211> 107

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

15 <400> 202

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

<210> 203

<211> 18

<212> ADN

20 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<400> 203

caggatatta gtatttgg 18

25 <210> 204

<211> 6

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintética
 <400> 204
 Gln Asp Ile Ser Ile Trp
 1 5
 5 <210> 205
 <211> 9
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 10 <223> Sintética
 <400> 205
 gttgcatcc 9
 <210> 206
 <211> 3
 15 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sintética
 <400> 206
 Val Ala Ser
 20 1
 <210> 207
 <211> 27
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 25 <220>
 <223> Sintética
 <400> 207
 caacaggcta acagttccc gatcacc 27
 <210> 208
 30 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sintética
 35 <400> 208

Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Ile Thr
1 5

<210> 209

<211> 355

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<400> 209

```
gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggcaggtc cctgagactc 60
tcctgtgagg cctctggatt cacctttgat gattatgcc a tgcactgggt ccggcaagct 120
ccggggaagg gcctggaatg ggtctcaggt cttagtccga caagtgtcag tataggctat 180
gcggactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccctttat 240
ttggaaatga acagtctgag acctgaggac acggccttat attactgtgc aaaatggggg 300
acccgggggt attttgacta ctggggccag ggaaccctgg tcaccgtctc ctacag 355
```

10 <210> 210

<211> 118

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Sintética

<400> 210

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

<210> 211

<211> 322

20 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<400> 211

```

gacatccaga tgaccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtgggaga cagagtcacc 60
atcacttgtc gggcgagtc ggatattagt atttggtag cctgggtatca gcagagtcca 120
gggaaagccc ctaaactcct gatcaatgtt gcatcccgtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcaacag tctgcagcct 240
gaagattttg taacttacta ttgtcaacag gtaaacagtt tcccgatcac cttcggccaa 300
gggacacgac tggagattaa ac 322

```

<210> 212

<211> 107

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<400> 212

```

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

```

10 <210> 213

<211> 355

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Sintética

<400> 213

```

gaagtgcagc tgggtggagtc tgggggagggc ttggtacagc ctggcaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt cacctttgat gattatgccca tgcactgggt ccggcaagct 120
ccagggaagg gcctggagtg ggtctcaggt cttagtgcga caagtgtcag tataggctat 180
gcggaactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccctgtat 240
ctgcaaatga acagtctgag agctgaggac acggccttgt attactgtgc aaaatggggg 300
accggggggg attttgacta ctggggccaa ggaaccctgg tcaccgtctc ctgag 355

```

<210> 214

<211> 118

20 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<400> 214

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

115

<210> 215

<211> 322

5 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<400> 215

gacatccaga tgaccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgtc gggcgagtca ggatattagt atttggttag cctgggtatca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaagctcct gatctatgtt gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
 aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
 gaagattttg caacttacta ttgtcaacag gctaacagtt tcccgatcac cttcggccaa 300
 gggacacgac tggagattaa ac 322

<210> 216

<211> 107

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15 <220>

<223> Sintética

<400> 216

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ile Trp
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Val 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 Ala Asn Ser Phe Pro Ile
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 217

20 <211> 363

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

5 <400> 217

```
gaggtgcagc tgttgaggc tgggggaggc ttgctacagc cggggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggaat cacctttagc acctatgccg tgagctgggt ccgtcaggct 120
ccagggaggg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggatgatg cacatcctac 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccagc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagtcata 300
gcagctcgtc ctcactggaa cttcgatctc tggggccgtg gcaccctggt cactgtctcc 360
tca 363
```

<210> 218

<211> 121

<212> PRT

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<400> 218

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

15 <210> 219

<211> 24

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

20 <223> Sintética

<400> 219

ggaatcacct ttagcaccta tgcc 24

<210> 220

<211> 8

25 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintética
 <400> 220
 Gly Ile Thr Phe Ser Thr Tyr Ala
 1 5
 5 <210> 221
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 10 <223> Sintética
 <400> 221
 attagtggta gtggtgatag caca 24
 <210> 222
 <211> 8
 15 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sintética
 <400> 222
 Ile Ser Gly Ser Gly Asp Ser Thr
 1 5
 20 <210> 223
 <211> 42
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 25 <220>
 <223> Sintética
 <400> 223
 gcgaaagtca tagcagctcg tctcactgg aactcgatc tc 42
 <210> 224
 30 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sintética
 35 <400> 224

Ala Lys Val Ile Ala Ala Arg Pro His Trp Asn Phe Asp Leu
1 5 10

<210> 225

<211> 324

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<400> 225

gaaattgtgt tgacacagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcctgca gggccagtc gagtgtagt agatatttag cctggatca acagaaacct 120
ggccaggctc ccaggctcct catctatgat gcatccaaca gggccactgg catcccagcc 180
aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagac ttcactctca ccatcagcag cctagagcct 240
gaagattttg gagtttatta ctgtcagcag cgtagtgtact ggccgctcac tttcggcgga 300
gggaccaagg tggagatcaa acgg 324

10 <210> 226

<211> 107

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Sintética

<400> 226

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

<210> 227

20 <211> 18

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

25 <400> 227

cagagtgtta gtagatat 18

<210> 228

<211> 6

<212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sintética
 5 <400> 228
 Gln Ser Val Ser Arg Tyr
 1 5
 <210> 229
 <211> 9
 <212> ADN
 10 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sintética
 <400> 229
 gatgcatcc 9
 15 <210> 230
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 20 <223> Sintética
 <400> 230
 Asp Ala Ser
 1
 <210> 231
 <211> 27
 25 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sintética
 <400> 231
 30 cagcagcgta gtgactggcc gctcact 27
 <210> 232
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 35 <220>
 <223> Sintética

<400> 232

Gln Gln Arg Ser Asp Trp Pro Leu Thr
1 5

<210> 233

<211> 363

5 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<400> 233

gaggtgcagc tgttggagtc tgggggaggc ttgctacagc cggggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggaat cacctttagc acctatgcc a tgagctgggt ccgtcaggct 120
ccaggagggg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtgggtgatag cacatccctac 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccagc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagtcata 300
gcagctcgtc ctcactggaa cttcgatctc tggggccgtg gcaccctgggt cactgtctcc 360
tca 363

10

<210> 234

<211> 121

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15

<220>

<223> Sintética

<400> 234

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

<210> 235

20

<211> 324

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

25

<400> 235


```

gaaattgtgt tgacacagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcctgca gggccagtc gagtgtagt agatatattag cctggtatca acagaaacct 120
ggccaggctc ccaggctcct catctatgat gcatccaaca gggccactgg catcccagcc 180
aggttcagtg gcagtggtgc tgggacagac ttactctca ccatcagcag cctagagcct 240
gaagattttg gagtttatta ctgtcagcag cgtagtgtact ggccgctcac tttcggcgga 300
gggaccaagg tggagatcaa acgg                                     324

```

<210> 236

<211> 107

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<400> 236

```

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

```

10 <210> 237

<211> 363

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Sintética

<400> 237

```

gaggtgcagc tgttgagtc tgggggaggc ttggtacagc cgggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggaat caccttttagc acctatgcc a tgagctgggt ccgtcaggct 120
ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtgatag cacatactac 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagtcata 300
gcagctcgtc ctcaactgga cttcgtatctc tggggccgtg gcaccctggt cactgtctcc 360
tca                                     363

```

<210> 238

<211> 121

20 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<400> 238

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

<210> 239

<211> 324

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<400> 239

gaaattgtgt tgacacagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
 ctctcctgca gggccagtc gagtgtagt agatatttag cctggatca acagaaacct 120
 ggccaggctc ccaggctcct catctatgat gcatccaaca gggccactgg catcccagcc 180
 aggttcagtg gcagtggtc tgggacagac ttcactctca ccatcagcag cctagagcct 240
 gaagattttg cagtttatta ctgtcagcag cgtagtgact ggccgctcac tttcggcgga 300
 gggaccaagg tggagatcaa acgg 324

10 <210> 240

<211> 108

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Sintética

<400> 240

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

<210> 241

<211> 366

20 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<400> 241

```

caggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
acctgtgcag cctctggatt caccttcagt agtaatggca tgcactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcaatt atatcatatg atggaaataa tcaatactat 180
gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagca cacgctgtat 240
ctggaaatga acagcctgag agctgaggac acggctgtgt attactgtac aaaagccatc 300
tctataagtg gaacttaca ctggttcgat tcctggggcc agggaaccct ggtcacccgc 360
tcctca
5

```

<210> 242

<211> 122

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

10 <220>

<223> Sintética

<400> 242

```

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

```

<210> 243

15 <211> 24

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

20 <400> 243

```

ggattcacct tcagtagtaa tggc      24

```

<210> 244

<211> 8

<212> PRT

25 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<400> 244

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Asn Gly
1 5

<210> 245

5 <211> 24

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

10 <400> 245

atatcatatg atggaaataa tcaa 24

<210> 246

<211> 8

<212> PRT

15 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<400> 246

Ile Ser Tyr Asp Gly Asn Asn Gln
1 5

20 <210> 247

<211> 45

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

25 <223> Sintética

<400> 247

acaaaagcca tctctataag tggaacttac aactggttcg attcc 45

<210> 248

<211> 15

30 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<400> 248

Thr Lys Ala Ile Ser Ile Ser Gly Thr Tyr Asn Trp Phe Asp Ser
1 5 10 15

35

<210> 249

<211> 324

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

5 <220>

<223> Sintética

<400> 249

```

gaaattgtat tgacacagtc tccagccatc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcctgca gggccagtc gagtgtagc aggtacttag cctggtacca acagaaacct 120
ggccaggctc ccaggctcct catctatgat gcatccaaca gggccactgg catcccagcc 180
aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagac ttcaactctca ccatcagcag cctagagcct 240
gaagattttg cagtttatta ctgtcaacag cgtagcaact ggccgctcac tttcggcgga 300
gggaccaagg tggagatcaa acgg                                     324

```

<210> 250

10 <211> 107

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

15 <400> 250

```

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

```

<210> 251

<211> 18

<212> ADN

20 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<400> 251

cagagtgtta gcaggtac 18

25 <210> 252

<211> 6

<212> PRT

<213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sintética
 <400> 252
 Gln Ser Val Ser Arg Tyr
 5 1 5
 <210> 253
 <211> 9
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 10 <220>
 <223> Sintética
 <400> 253
 gatgcatcc 9
 <210> 254
 15 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sintética
 20 <400> 254
 Asp Ala Ser
 1
 <210> 255
 <211> 27
 <212> ADN
 25 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sintética
 <400> 255
 caacagcgta gcaactggcc gctcact 27
 30 <210> 256
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 35 <223> Sintética
 <400> 256

Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Leu Thr
1 5

<210> 257

<211> 366

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<400> 257

```
cagggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
acctgtgcag cctctggatt caccttcagt agtaatggca tgcactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcaatt atatcatatg atggaaataa tcaatactat 180
gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagca cacgctgtat 240
ctggaaatga acagcctgag agctgaggac acggctgtgt attactgtac aaaagccatc 300
tctataagtg gaacttacaa ctggttcgat tcctggggcc agggaaccct ggtcacccgc 360
tcctca
```

10 <210> 258

<211> 122

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Sintética

<400> 258

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

<210> 259

<211> 324

20 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<400> 259

```

gaaattgtat tgacacagtc tccagccatc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcctgca gggccagtc gagtgtagc aggtacttag cctgggtacca acagaaacct 120
ggccaggctc ccaggctcct catctatgat gcatccaaca gggccactgg catcccagcc 180
aggttcagtg gcagtggtgc tgggacagac ttactctca ccatcagcag cctagagcct 240
gaagattttg cagtttatta ctgtcaacag cgtagcaact ggccgctcac tttcggcgga 300
gggaccaagg tggagatcaa acgg 324

```

<210> 260

<211> 107

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<400> 260

```

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

```

10 <210> 261

<211> 366

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Sintética

<400> 261

```

cagggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt agtaatggca tgcactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatcatatg atggaaataa tcaatactat 180
gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agctgaggac acggctgtgt attactgtac aaaagccatc 300
tctataagtg gaacttacaa ctggttcgat tcctggggcc agggaaccct ggtcaccgtc 360
tcctca 366

```

<210> 262

<211> 122

20 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<400> 262

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

<210> 263

<211> 324

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<400> 263

gaaattgtat tgacacagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
 ctctcctgca gggccagtca gagggttagc aggtacttag cctggtacca acagaaacct 120
 ggccaggctc ccaggctcct catctatgat gcatccaaca gggccactgg catcccagcc 180
 aggttcagtg gcagtggtgc tgggacagac ttcactctca ccatcagcag cctagagcct 240
 gaagattttg cagtttatta ctgtcaacag cgtagcaact ggccgctcac tttcggcgga 300
 gggaccaagg tggagatcaa acgg 324

10 <210> 264

<211> 108

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Sintética

<400> 264

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

<210> 265

<211> 8

20 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<220>

5 <221> VARIANTE

<222> (1)....(8)

<223> Xaa = cualquier aminoácido

<400> 265

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5

10 <210> 266

<211> 8

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Sintética

<220>

<221> VARIANTE

<222> (1).....(8)

<223> Xaa = cualquier aminoácido

20 <400> 266

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5

<210> 267

<211> 18

<212> PRT

25 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<220>

<221> VARIANTE

30 <222> (1).....(18)

<223> Xaa = cualquier aminoácido

<400> 267

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5 10 15
Xaa Xaa

<210> 268

35 <211> 11

<212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sintética
 5 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> (1)(11)
 <223> Xaa = cualquier aminoácido
 <400> 268
 Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 10 1 5 10
 <210> 269
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 15 <220>
 <223> Sintética
 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> (1)....(3)
 20 <223> Xaa = cualquier aminoácido
 <400> 269
 Xaa Xaa Xaa
 1
 <210> 270
 <211> 9
 25 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sintética
 <220>
 30 <221> VARIANTE
 <222> (1).....(9)
 <223> Xaa = cualquier aminoácido
 <400> 270
 Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 1 5
 35 <210> 271

<211> 330

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

5 <223> Sintética

<400> 271

```

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
 1      5      10      15
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 20      25      30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 35      40      45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 50      55      60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
 65      70      75      80
Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85      90      95
Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
 100      105      110
Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
 115      120      125
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
 130      135      140
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
 145      150      155      160
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 165      170      175
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
 180      185      190
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
 195      200      205
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
 210      215      220
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
 225      230      235      240
Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
 245      250      255
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
 260      265      270
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
 275      280      285
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
 290      295      300
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
 305      310      315      320
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 325      330

```

<210> 272

<211> 327

10 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<400> 272

```

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
 1      5      10      15
Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
      20      25      30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
      35      40      45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
      50      55      60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr
      65      70      75      80
Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
      85      90      95
Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro
      100      105      110
Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
      115      120      125
Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
      130      135      140
Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
      145      150      155      160
Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
      165      170      175
Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
      180      185      190
Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
      195      200      205
Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
      210      215      220
Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys
      225      230      235      240
Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
      245      250      255
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
      260      265      270
Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
      275      280      285
Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
      290      295      300
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
      305      310      315      320
Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
      325

```

<210> 273

<211> 327

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<400> 273

```

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
 1      5      10      15
Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
      20      25      30

```

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr
65 70 75 80
Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110
Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125
Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140
Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160
Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
165 170 175
Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190
Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
195 200 205
Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220
Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys
225 230 235 240
Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
245 250 255
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270
Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285
Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305 310 315 320
Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
325

<210> 274

<211> 207

<212> PRT

5 <213> Homo sapiens

<400> 274

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

```

      130      135      140
Ala Asp Phe Arg Ile Tyr Asn Val Thr Tyr Leu Glu Pro Ser Leu Arg
145      150      155      160
Ile Ala Ala Ser Thr Leu Lys Ser Gly Ile Ser Tyr Arg Ala Arg Val
      165      170      175
Arg Ala Trp Ala Gln Cys Tyr Asn Thr Thr Trp Ser Glu Trp Ser Pro
      180      185      190
Ser Thr Lys Trp His Asn Ser Tyr Arg Glu Pro Phe Glu Gln His
      195      200      205

```

<210> 275

<211> 231

<212> PRT

5 <213> Macaca fascicularis

<400> 275

```

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

```

REIVINDICACIONES

1. Una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno del mismo que se une específicamente a receptor de interleuquina-4 (IL-4R) para usar en la reducción de la incidencia de una o más exacerbaciones asmáticas en un sujeto que padece asma persistente,
- 5 En el que el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo comprende secuencias de la región determinante de complementareidad (CDR) de la cadena pesada y la cadena ligera procedentes de un par de secuencias de la región variable de la cadena pesada (HCVR) / región variable de la cadena ligera (LCVR) de SEQ ID NOs: 162/164.
- 10 2. La composición farmacéutica para usar según la reivindicación 1, en la que la exacerbación asmática se selecciona del grupo que consiste en:
 - (a) una reducción del 30% o más desde el punto de referencia en el flujo espiratorio máximo de la mañana (PEF) en dos días consecutivos;
 - (b) seis o más dosis aliviadoras adicionales de albuterol o levalbuterol en un periodo de 24 horas (en comparación con el punto de referencia) en dos días consecutivos; y
 - 15 (c) un deterioro de asma que necesita:
 - (i) tratamiento con esteroides sistémico (oral y/o parenteral), o
 - (ii) un aumento en los corticosteroides inhalados en al menos 4 veces la última dosis recibida antes de la interrupción, o
 - (iii) hospitalización.
- 20 3. La composición farmacéutica para usar según la reivindicación 1 o 2, en la que la composición farmacéutica tiene una o más de las siguientes características:
 - comprende 75 mg a 600 mg del anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo;
 - se administra al sujeto a una frecuencia de dosificación de una vez a la semana o una vez cada dos semanas;
 - se administra al sujeto de forma sistémica, subcutánea, intravenosa o intranasal.
- 25 4. Una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno del mismo que se une específicamente al receptor de interleuquina-4 (IL-4R) para el uso en la mejora de uno o más parámetro(s) asociado(s) con el asma en un sujeto que padece asma persistente, en el que la mejora en un parámetro asociado con el asma se selecciona del grupo que consiste en:
 - (a) un aumento desde el punto de referencia del volumen espiratorio forzado en 1 segundo (FEV1) de al menos 0,10 L;
 - 30 (b) un aumento desde el punto de referencia del caudal espiratorio máximo por la mañana (AM PEF) de al menos 10,0 L/min;
 - (c) un aumento desde el punto de referencia del caudal espiratorio máximo por la tarde (PM PEF) de al menos 1,0 L/min;
 - 35 (d) una disminución desde el punto de referencia del uso diario de albuterol/levalbuterol de al menos 1 inhalación/día;
 - (e) una disminución desde el punto de referencia de la puntuación del Cuestionario de control del asma de cinco puntos (ACQ5) de al menos 0,5 puntos;
 - (f) una disminución desde el punto de referencia de despertares nocturnos (núm. de veces por noche) medidos diariamente de al menos 0,2 veces por noche; y
 - 40 (g) una disminución desde el punto de referencia de la puntuación de la Prueba de resultado senonasal de 22 puntos (SNOT-22) de al menos 5 puntos,

Y en la que el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo comprende secuencias de la región determinante de la complementareidad (CDR) de la cadena pesada y la cadena ligera procedentes de un par de secuencias de la región variable de la cadena pesada (HCVR) / región variable de la cadena ligera (LCVR) de SEQ ID NOs: 162/164.
- 45

5. La composición farmacéutica para usar según la reivindicación 4, en la que la composición farmacéutica comprende 75 mg a 600 mg de un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo, y/o en la que la composición farmacéutica se administra al sujeto de forma sistémica, subcutánea, intravenosa o intranasal.
- 5 6. La composición farmacéutica para usar según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en la que un segundo agente terapéutico se administra al sujeto antes, después o simultáneamente con la composición farmacéutica, en la que, preferiblemente, el segundo agente terapéutico se selecciona del grupo que consiste en: un inhibidor de TNF, un inhibidor de IL-1, un inhibidor de IL-5, un inhibidor de IL-8, un inhibidor de IgE, un inhibidor de leucotrieno, un corticosteroide, una metilxantina, un AINE, nedocromilo sódico, cromolino sódico, un beta2 agonista de acción prolongada, un agente anti-fúngico y una combinación de los mismos.
- 10 7. Una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno del mismo que se une específicamente al receptor de interleuquina-4 (IL-4R) para usar en la reducción de la incidencia de exacerbaciones asmáticas o mejorar uno o más parámetro(s) asociado(s) con asma en un sujeto que padece asma persistente, comprendiendo dicho uso administrar secuencialmente al sujeto una única dosis inicial de la composición farmacéutica, en la que la administración de la única dosis inicial está seguida por una o más dosis secundarias de la composición farmacéutica,
- 15 Y en la que el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo comprende secuencias de la región determinante de la complementariedad (CDR) de la cadena pesada y la cadena ligera procedente de un par de secuencias de la región variable de la cadena pesada (HCVR) / región variable de la cadena ligera (LCVR) de SEQ ID NOs: 162/164.
- 20 8. La composición farmacéutica para usar según la reivindicación 7, en la que cada una de la dosis inicial y las dosis secundarias de la composición farmacéutica comprenden 75 mg a 600 mg del anticuerpo o fragmento de unión al antígeno, y/o en la que la composición farmacéutica se administra al sujeto de forma sistémica, subcutánea, intravenosa o intranasal.
- 25 9. La composición farmacéutica para usar según la reivindicación 7 u 8, en la que un segundo agente terapéutico se administra al sujeto antes, después o simultáneamente con la dosis inicial y/o la dosis secundaria de la composición farmacéutica, en la que, preferiblemente, el segundo agente terapéutico se selecciona del grupo que consiste en: un inhibidor de TNF, un inhibidor de IL-1, un inhibidor de IL-5, un inhibidor de IL-8, un inhibidor de IgE, un inhibidor de leucotrieno, un corticosteroide, una metilxantina, un AINE, nedocromilo sódico, cromolino sódico, un beta2 agonista de acción prolongada, un agente anti-fúngico y una combinación de los mismos.
- 30 10. La composición farmacéutica para usar según una cualquiera de las reivindicaciones 7-9, en la que cada dosis secundaria se administra 1 a 8 semanas después de la dosis inmediatamente anterior, o en la que al menos 8 dosis secundarias del anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo que se une específicamente a un receptor de interleuquina-4 (IL-4R) se administran al sujeto, y en la que cada dosis secundaria se administra 1 semana después de la dosis inmediatamente anterior.
- 35 11. Una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo que se une específicamente al receptor de interleuquina-4 (IL-4R) para usar en el tratamiento de asma persistente que comprende: (a) seleccionar a un paciente que muestra un nivel de eosinófilos en sangre de al menos 300 células por microlitro y/o un nivel de eosinófilos en esputo de al menos 3%; y (b) administrar al paciente la composición farmacéutica,
- 40 En la que el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo comprende secuencias de la región determinante de la complementariedad (CDR) de la cadena pesada y la cadena ligera de un par de secuencias de la región variable de la cadena pesada (HCVR) / región variable de la cadena ligera (LCVR) de SEQ ID NOs: 162/164.
- 45 12. Un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo que se une específicamente al receptor de interleuquina-4 (IL-4R) para usar en la reducción o eliminación de una dependencia del paciente de asma persistente de los corticosteroides inhalados (ICS) y/o beta-agonistas de acción prolongada (LABA) para el tratamiento de una o más exacerbaciones asmáticas que comprende:
- (a) seleccionar un paciente que tiene asma persistente de moderado a severo que está parcialmente controlado o no controlado con una terapia de asma de base que comprende un ICS, un LABA, o una combinación de los mismos;
- (b) administrar al paciente una dosis definida del anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo a una frecuencia definida durante un periodo de tratamiento inicial mientras se mantiene la terapia de asma de base del paciente durante el periodo de tratamiento inicial; y
- 50 (c) reducir gradualmente o eliminar la dosis de ICS y/o LABA administrados al paciente durante el curso de un periodo de tratamiento posterior mientras se continúa administrando el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo al paciente a la frecuencia y dosis definidas usadas durante el periodo de tratamiento inicial

En la que el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo comprende secuencias de la región determinante de la complementariedad (CDR) de la cadena pesada y la cadena ligera procedentes de un par de secuencias de la región variable de la cadena pesada (HCVR) / región variable de la cadena ligera (LCVR) de SEQ ID NOs: 162/164.

- 5 13. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo para usar según la reivindicación 12, en el que el ICS es fluticasona, budesonida o mometasona, y/o en el que el LABA es salmeterol o formoterol, y/o en el que la combinación de ICS/LABA es fluticasona/salmeterol, budesonida/formoterol o mometasona/formoterol.

- 10 14. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo para usar según la reivindicación 12 o 13, en el que la dosis de LABA se elimina al final del periodo de tratamiento inicial, y/o en el que la dosis de LABA y/o ICS se reduce gradualmente o se elimina en el curso de 2 a 8 semanas.

- 15 15. Un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo que se une específicamente al receptor de interleuquina-4 (IL-4R) para usar en el tratamiento de asma persistente de moderado a severo, comprendiendo dicho tratamiento: (a) seleccionar un paciente con un nivel elevado de un biomarcador seleccionado del grupo que consiste en quimiocina regulada por timo y activación (TARC), IgE, eotaxina-3, periostina, antígeno carcinoembrionario (CEA), YKL-40, y óxido nítrico exhalado fraccionado (FeNO); y (b) administrar al paciente una cantidad terapéuticamente efectiva del anticuerpo o fragmento de unión al antígeno,

- 20 En el que el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo comprende las secuencias de la región determinante de complementariedad (CDR) de la cadena pesada y la cadena ligera desde un par de secuencias de la región variable de la cadena pesada (HCVR) / región variable de la cadena ligera (LCVR) de SEQ ID NOs: 162/164.

- 25 16. La composición farmacéutica para usar según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11 o el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo para usar según cualquiera de las reivindicaciones 13 a 15, en el que el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo comprende una cadena pesada que comprende secuencias de la región determinante de complementariedad de la cadena pesada (HCDR) de SEQ ID NOs: 148, 150, y 152, respectivamente, y una cadena ligera que comprende secuencias de la región determinante de complementariedad de la cadena ligera (LCDR) de SEQ ID NOs: 156, 158 y 160, respectivamente, en las que, más preferiblemente, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo comprende un HCVR que tiene la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO: 162, y una LCVR que tiene la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO: 164.

- 30 17. La composición farmacéutica para usar según una cualquiera de las reivindicaciones 7-10, en la que la dosis inicial y las dosis secundarias de la composición farmacéutica comprende cada una la misma cantidad del anticuerpo o fragmento de unión al antígeno, o en la que la dosis inicial comprende 600 mg del anticuerpo o fragmento de unión al antígeno y cada una de las dosis secundarias comprende 75 a 300 mg del anticuerpo o fragmento de unión al antígeno.

Exacerbaciones asmáticas

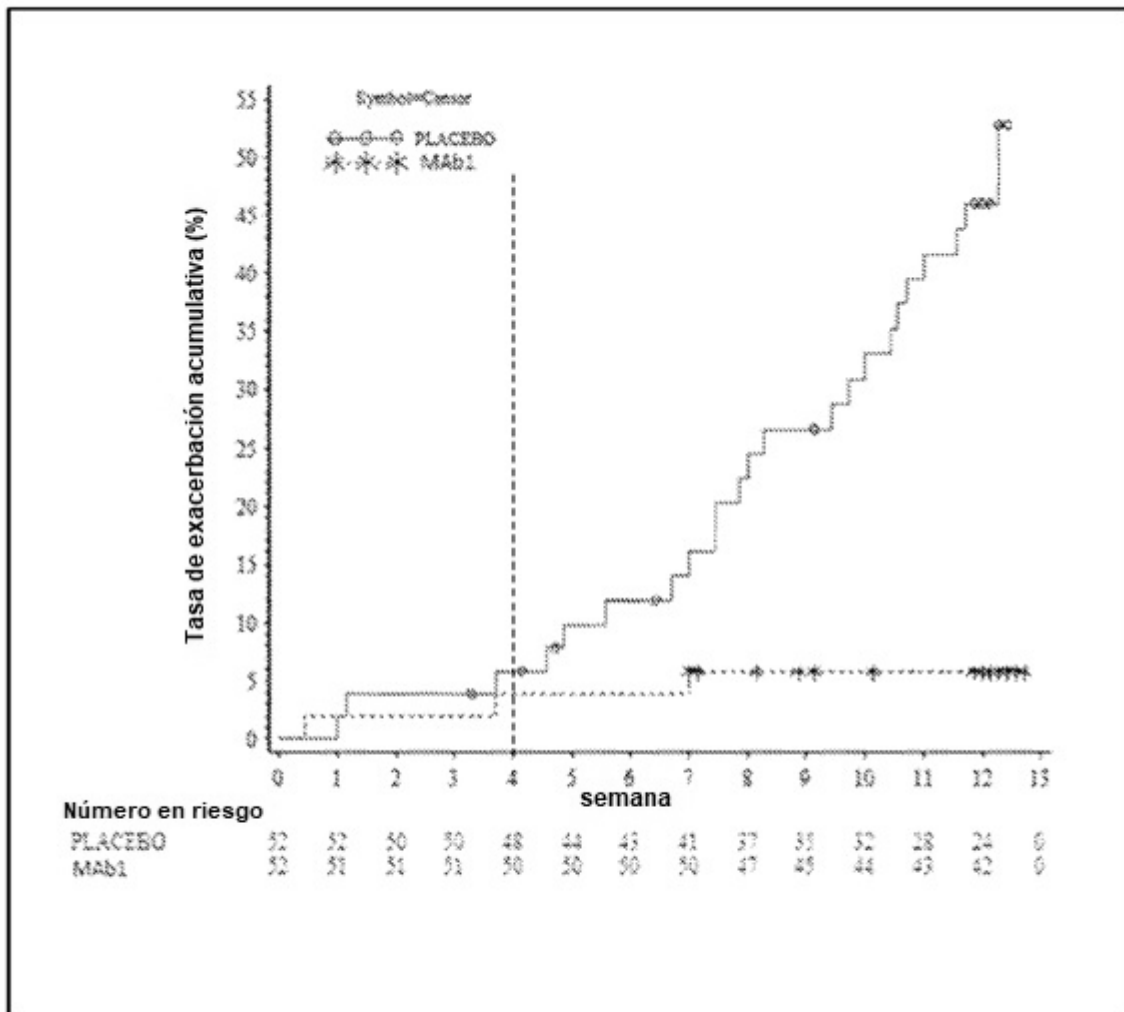


Figura 1

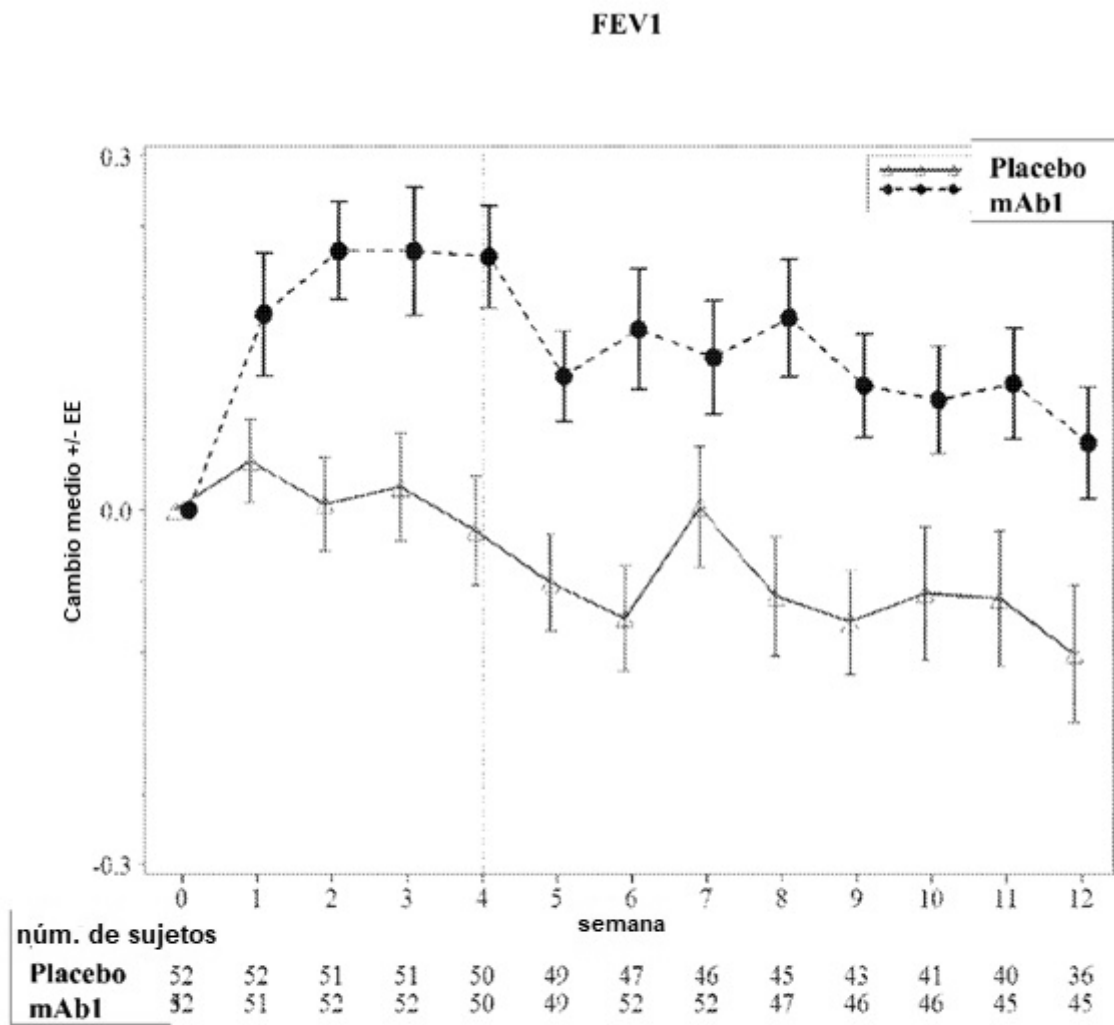
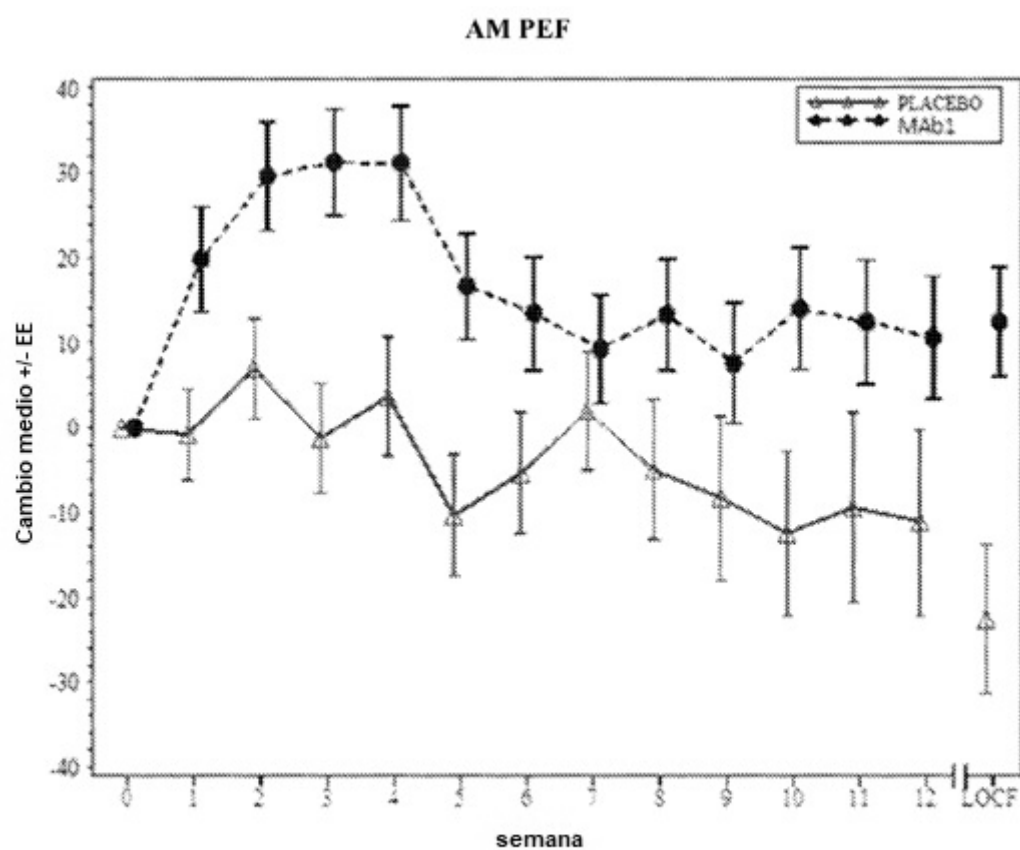
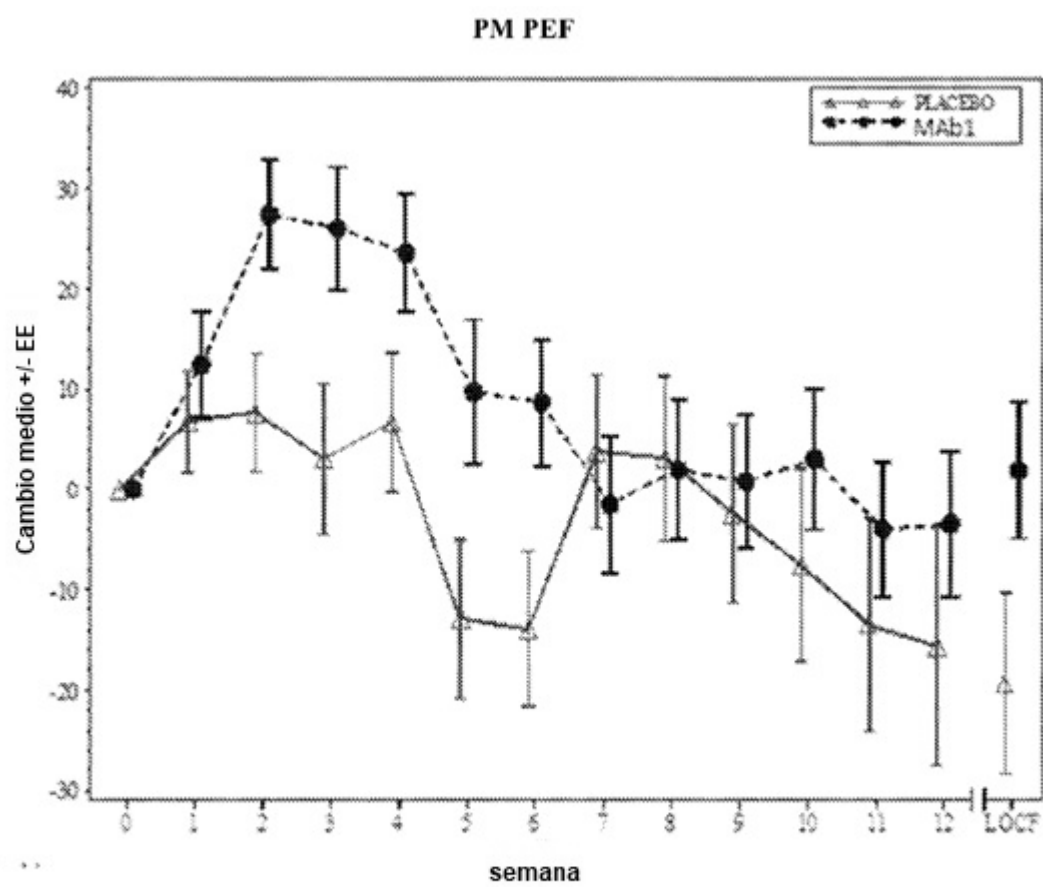


Figura 2

**Figura 3**

**Figura 4**

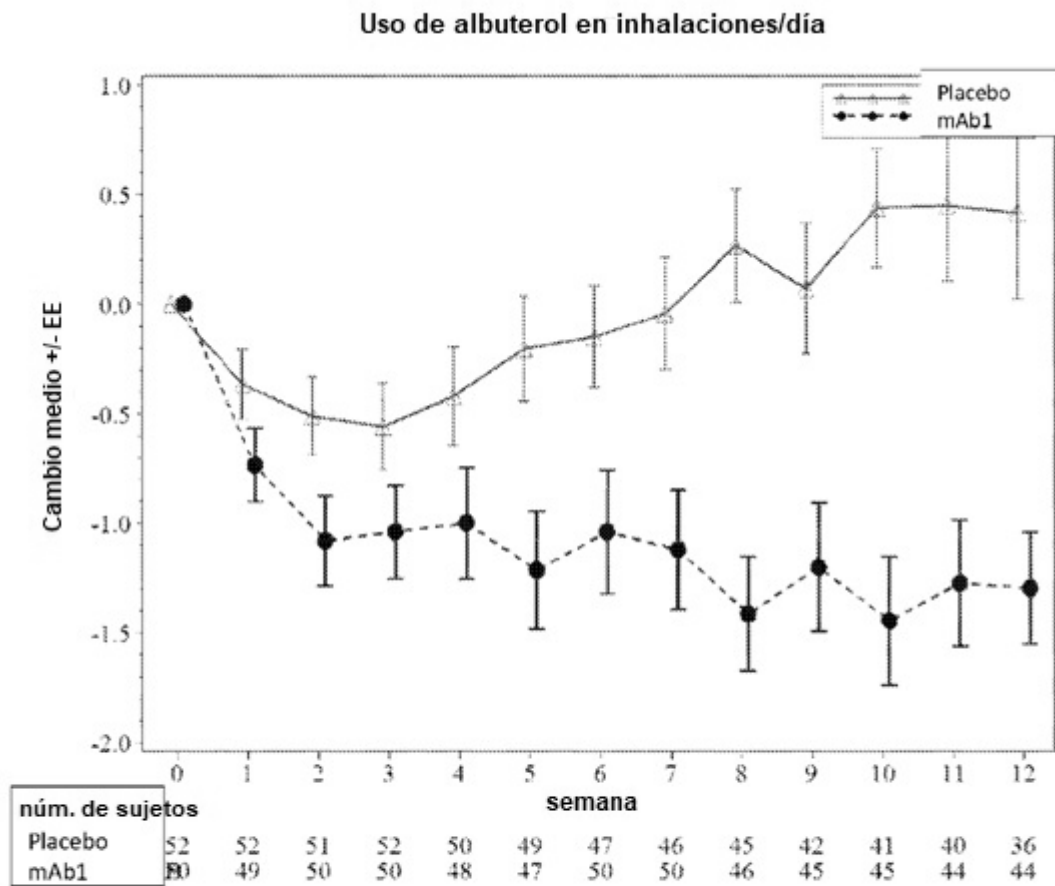


Figure 5

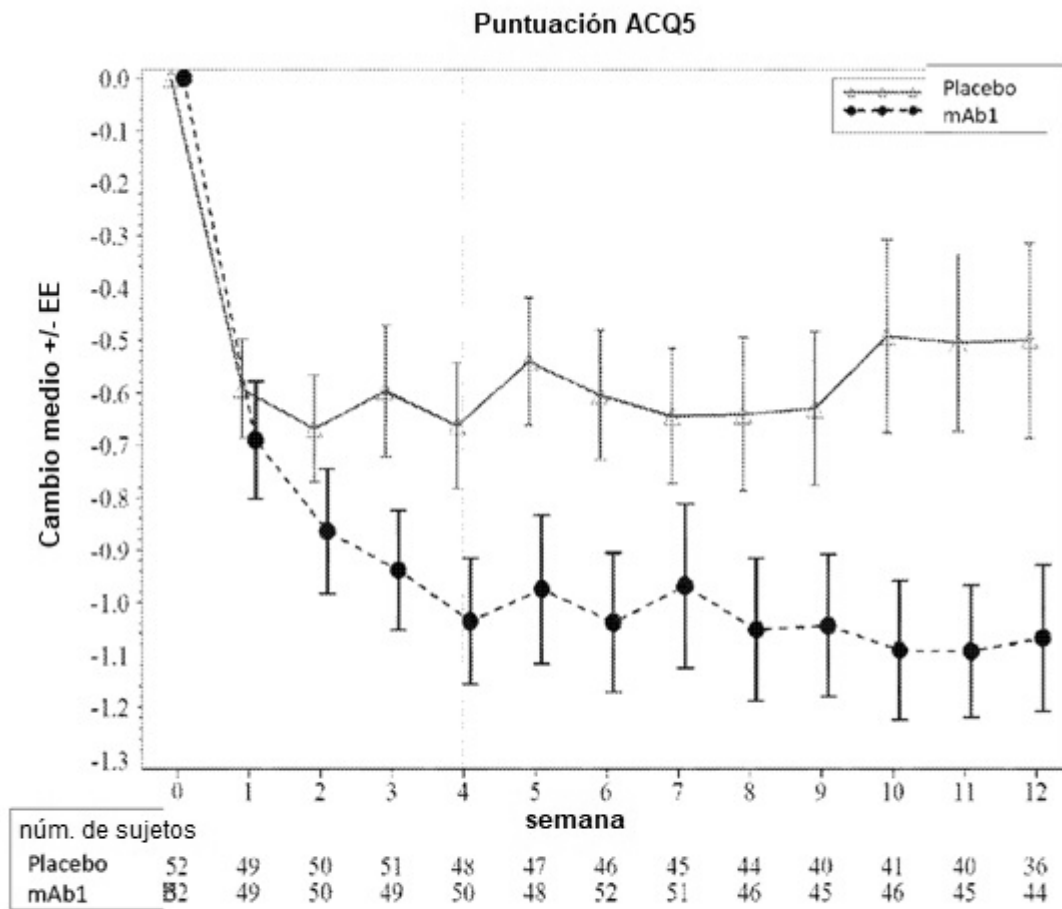


Figura 6

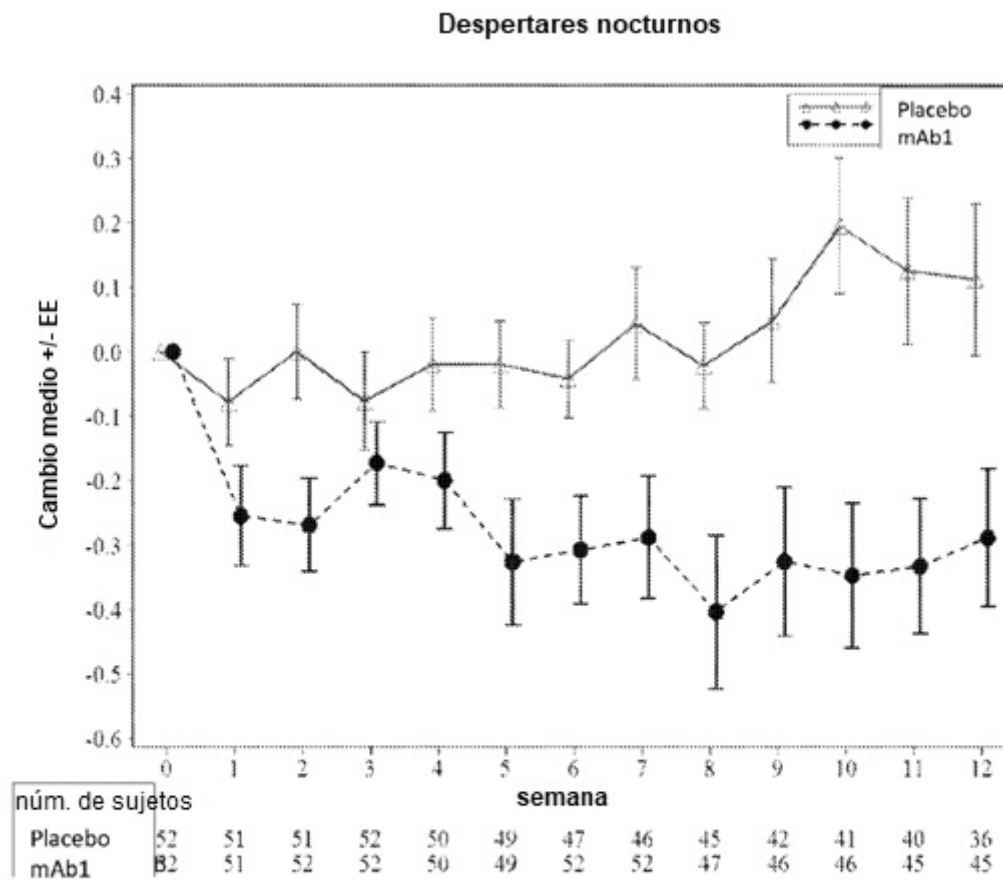


Figura 7

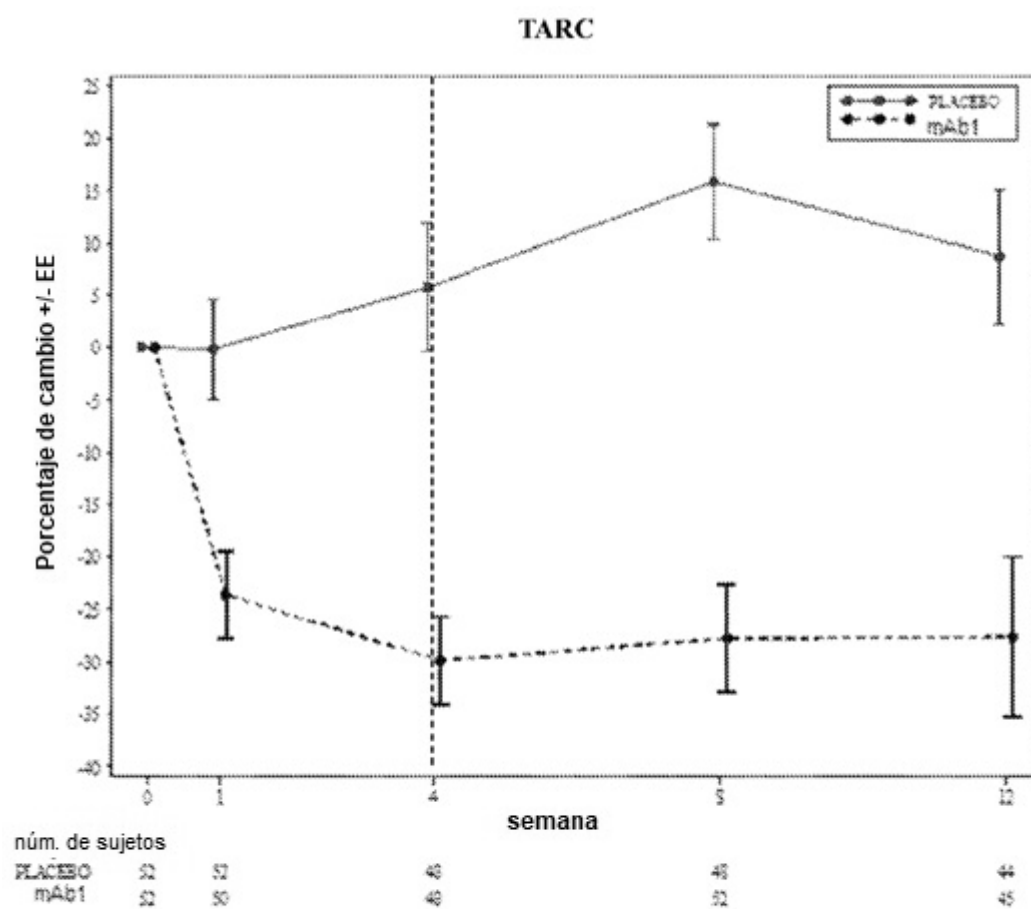


Figura 8

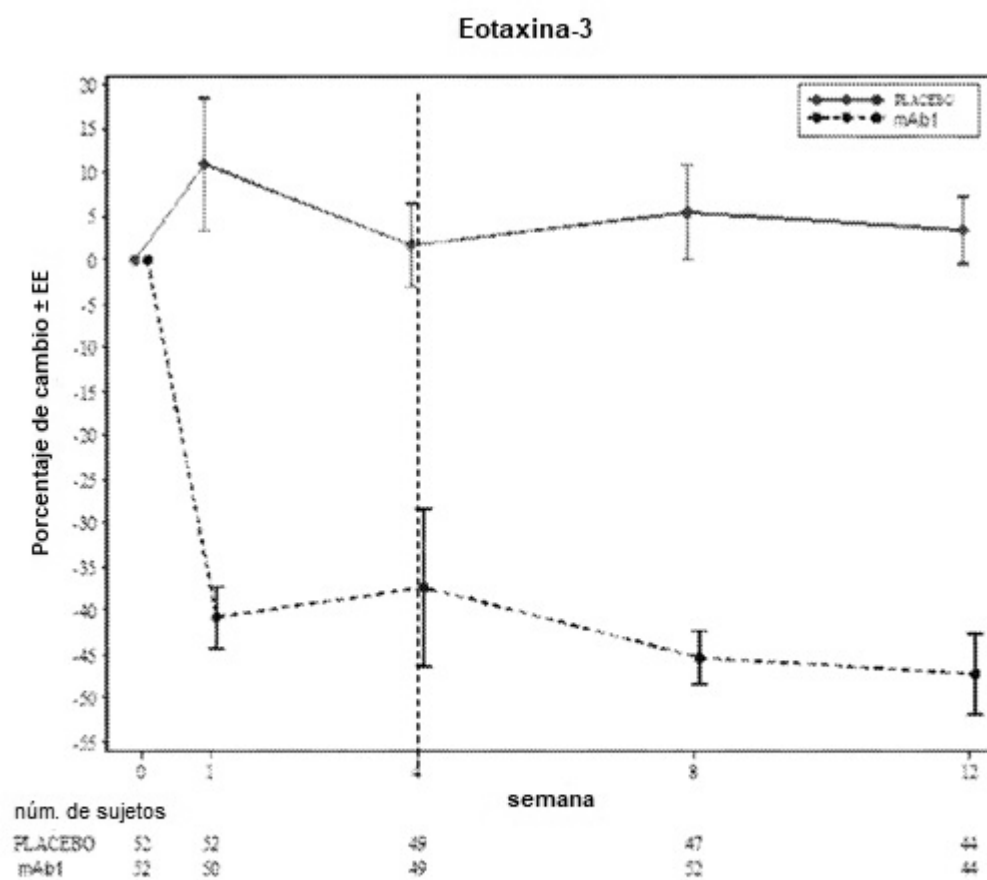


Figura 9

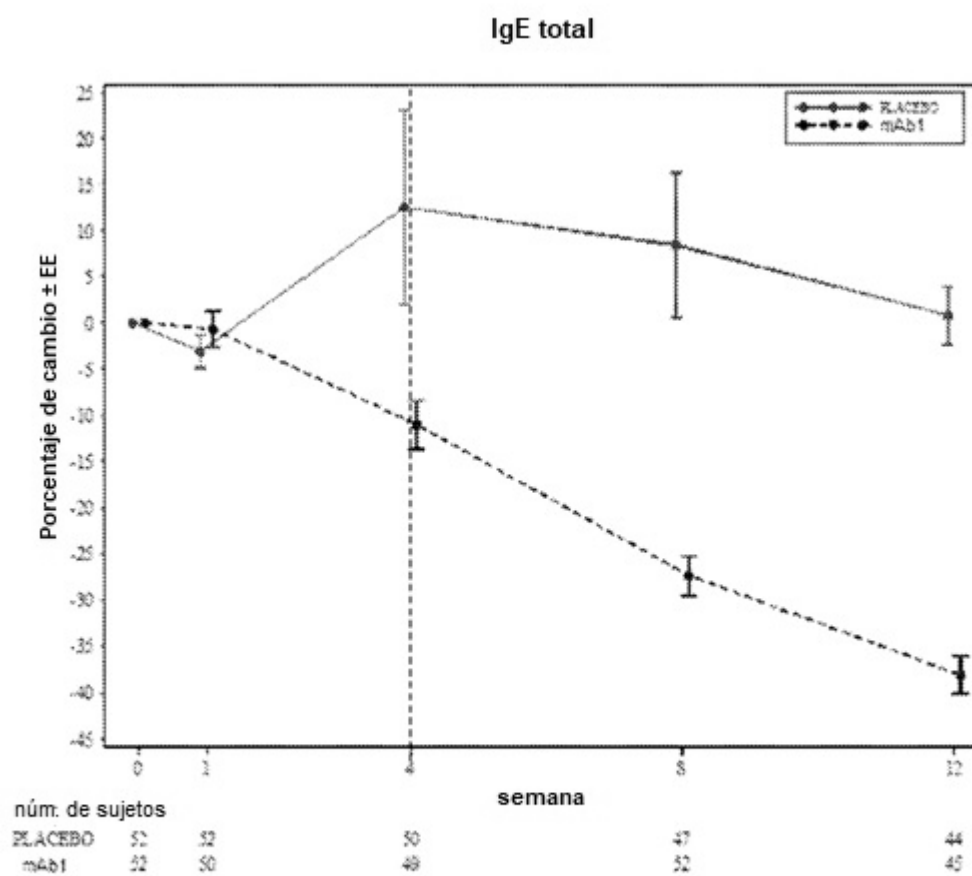


Figura 10

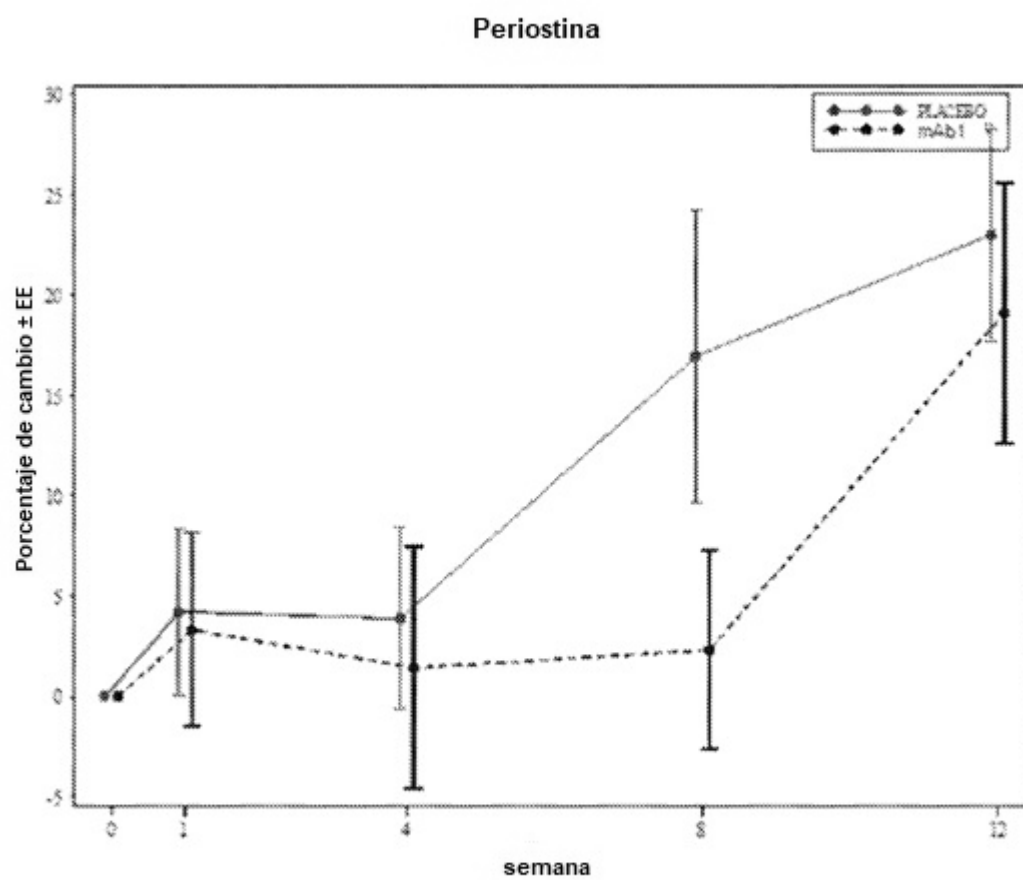


Figura 11

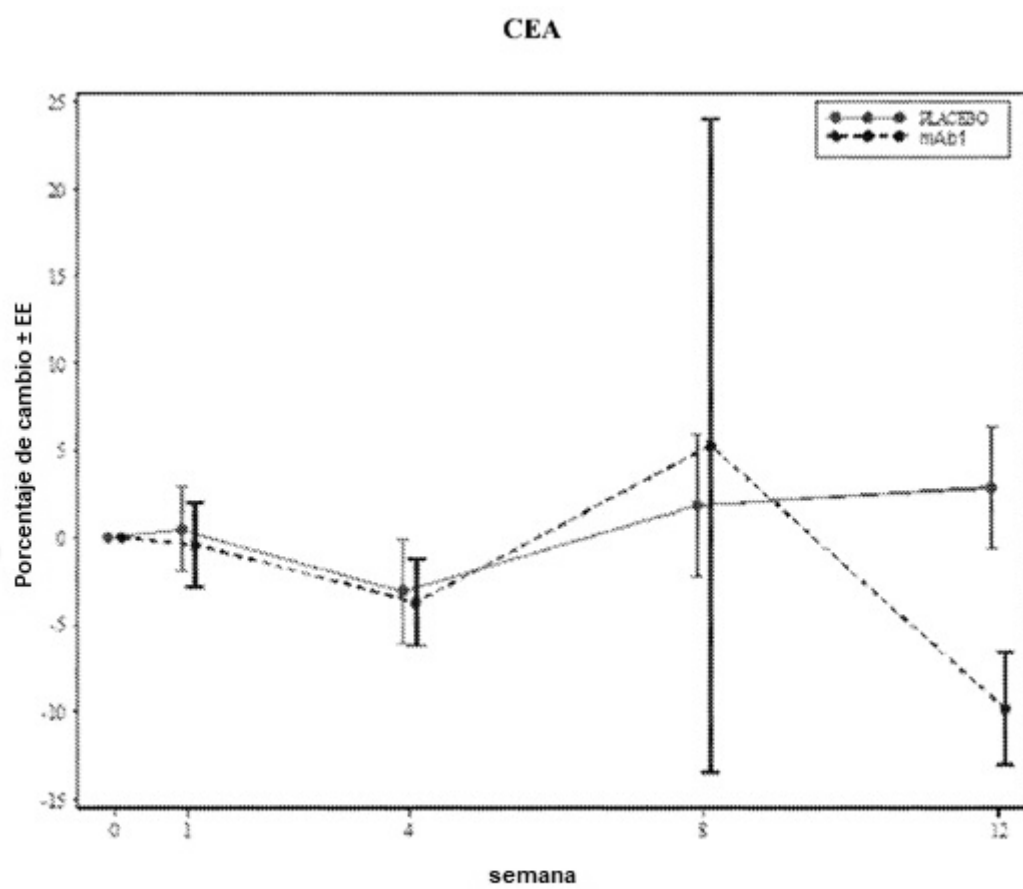


Figura 12

YKL-40

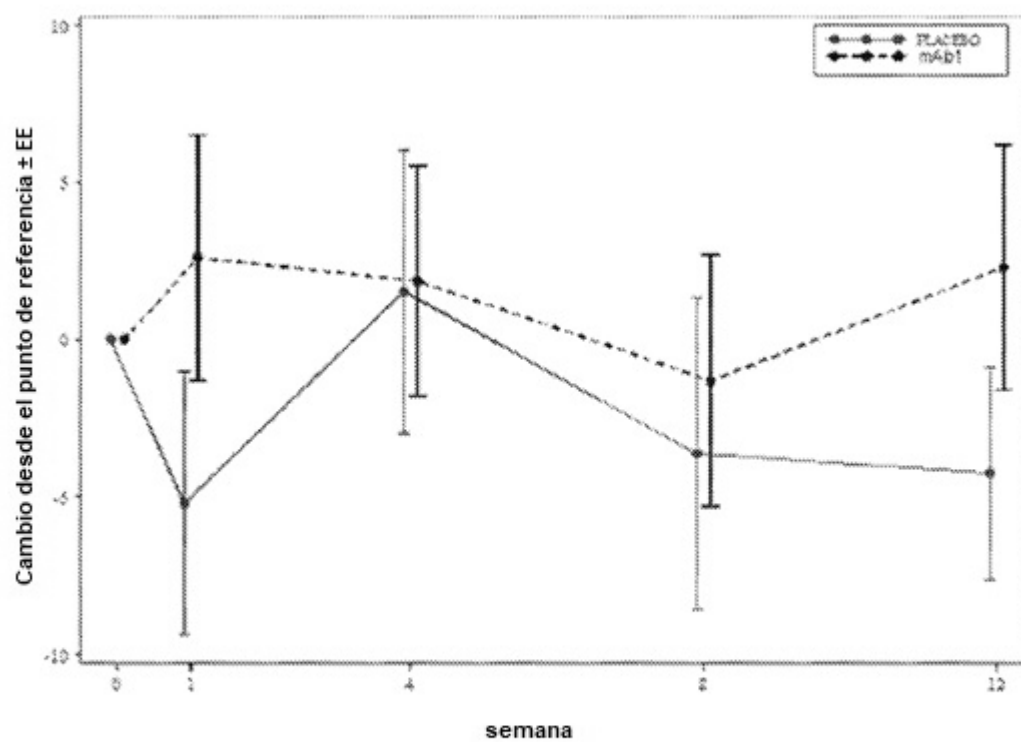


Figura 13

Eosinófilos en sangre

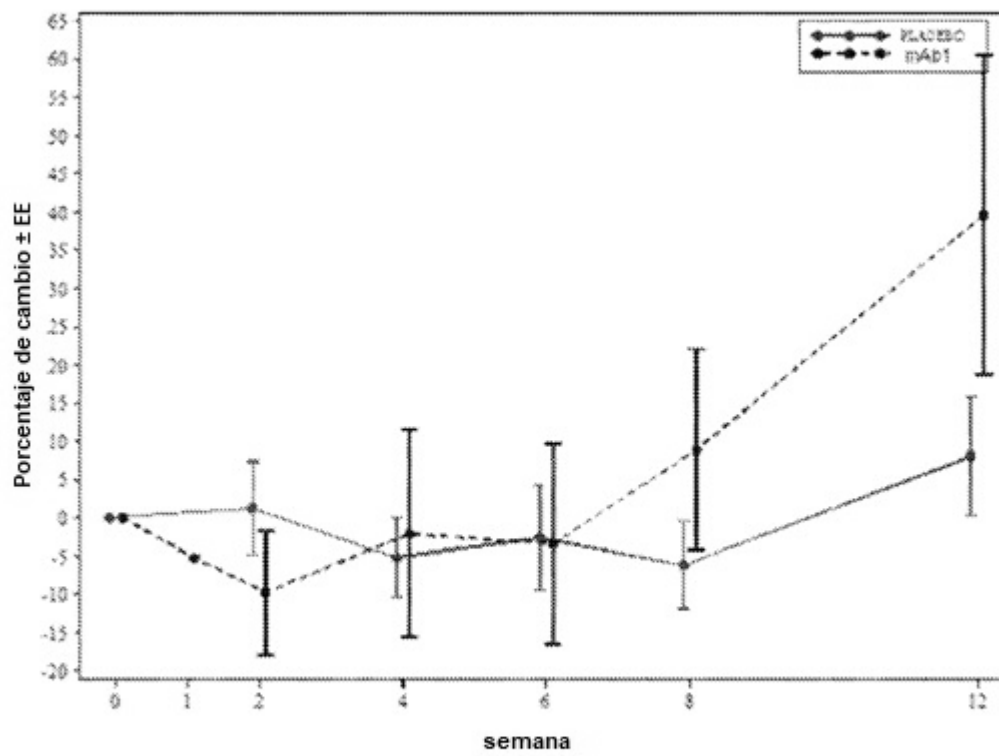


Figura 14

FeNO

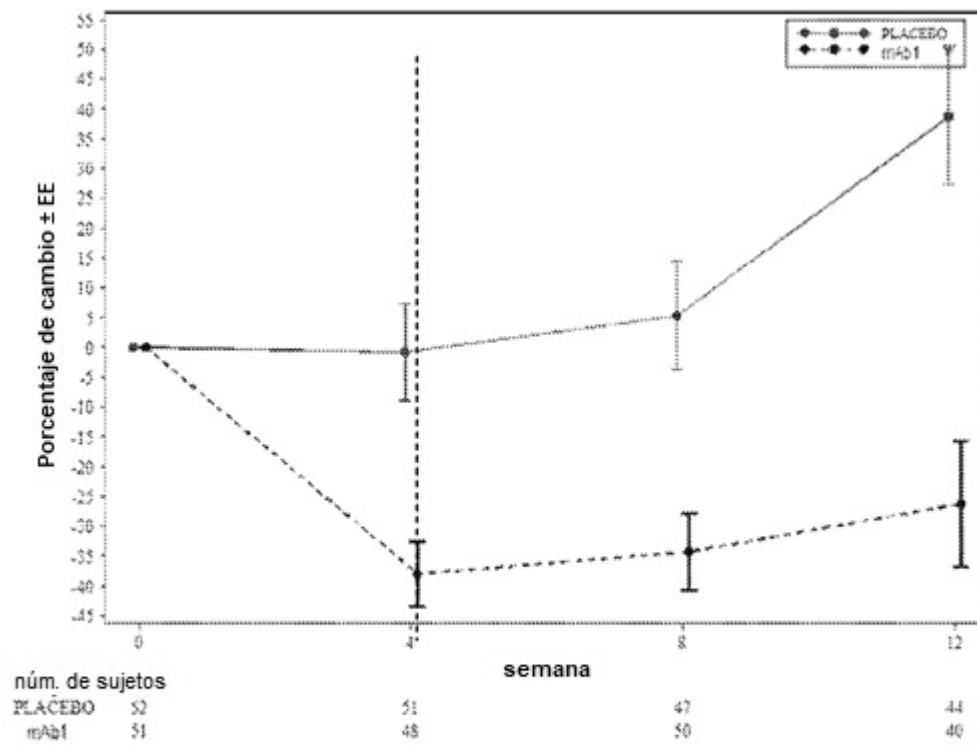


Figura 15

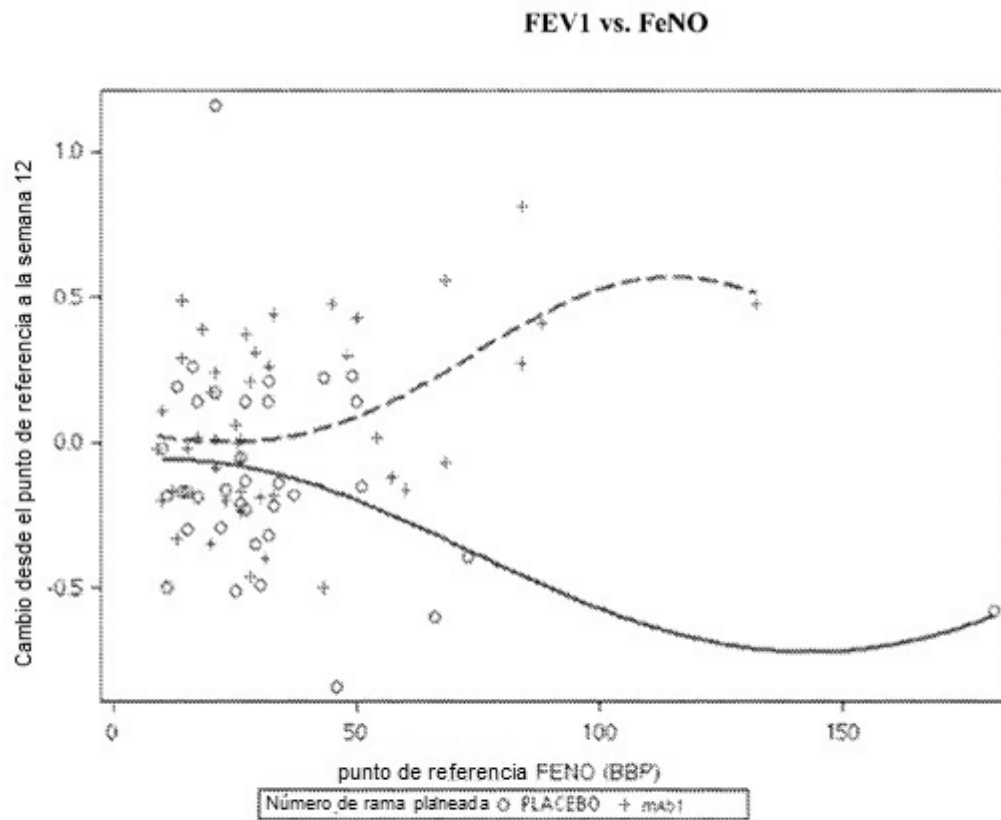


Figura 16

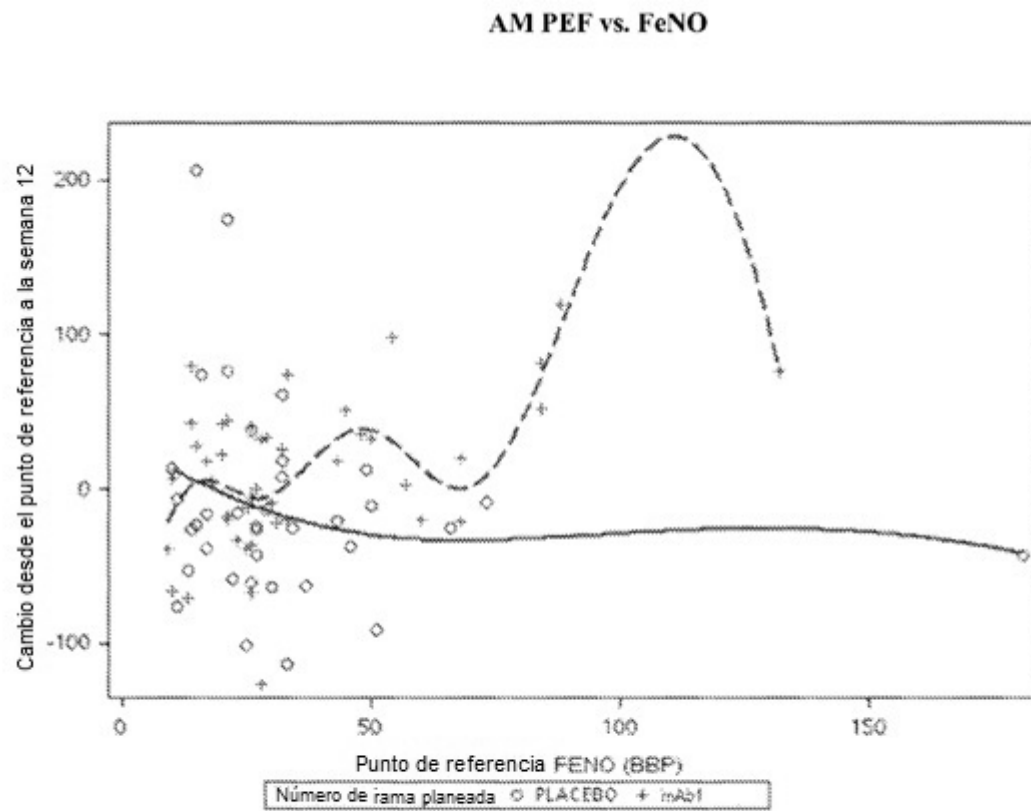


Figura 17

PM PEF vs. FeNO

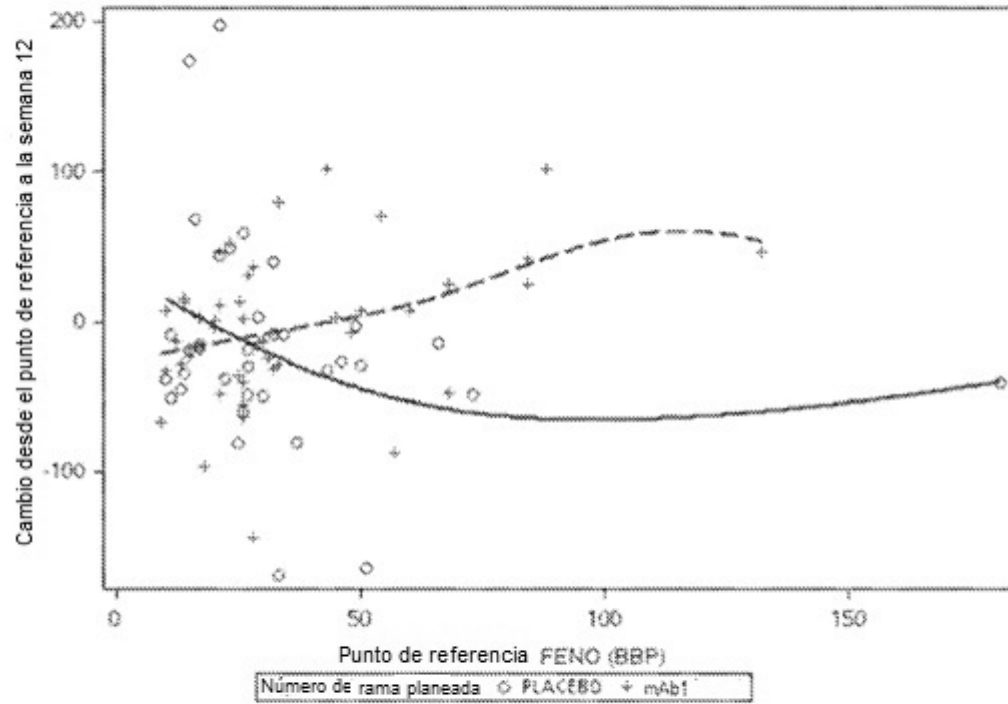


Figura 18

FEV1 vs. Eosinófilos en sangre

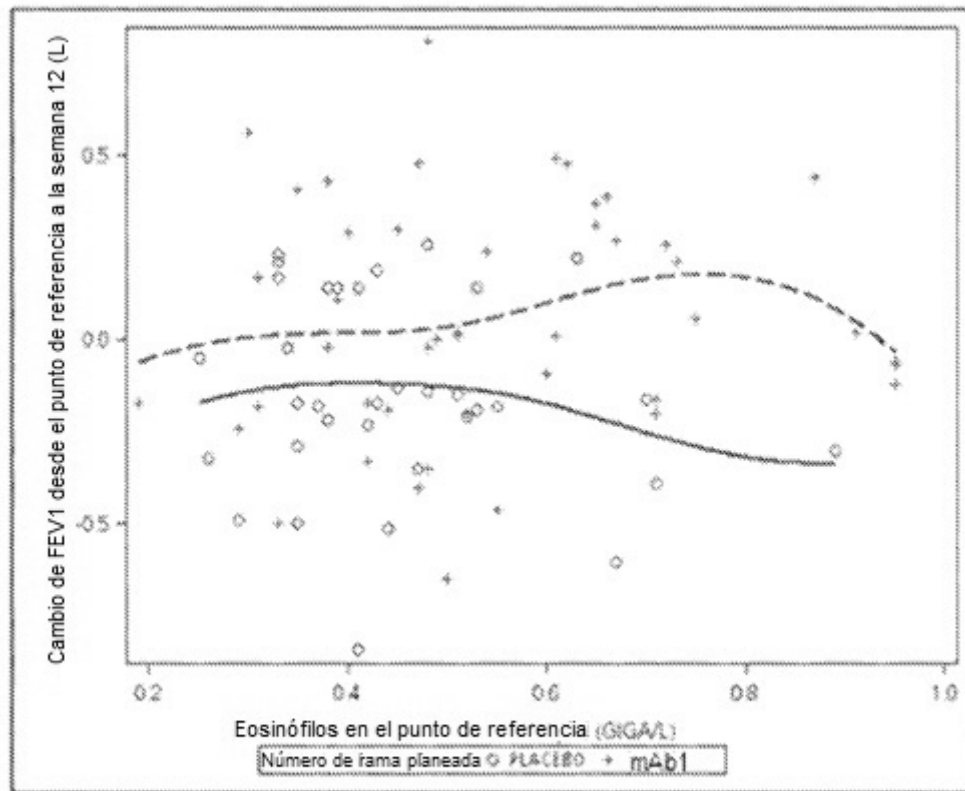


Figura 19

ACQ vs. Eosinófilos en sangre

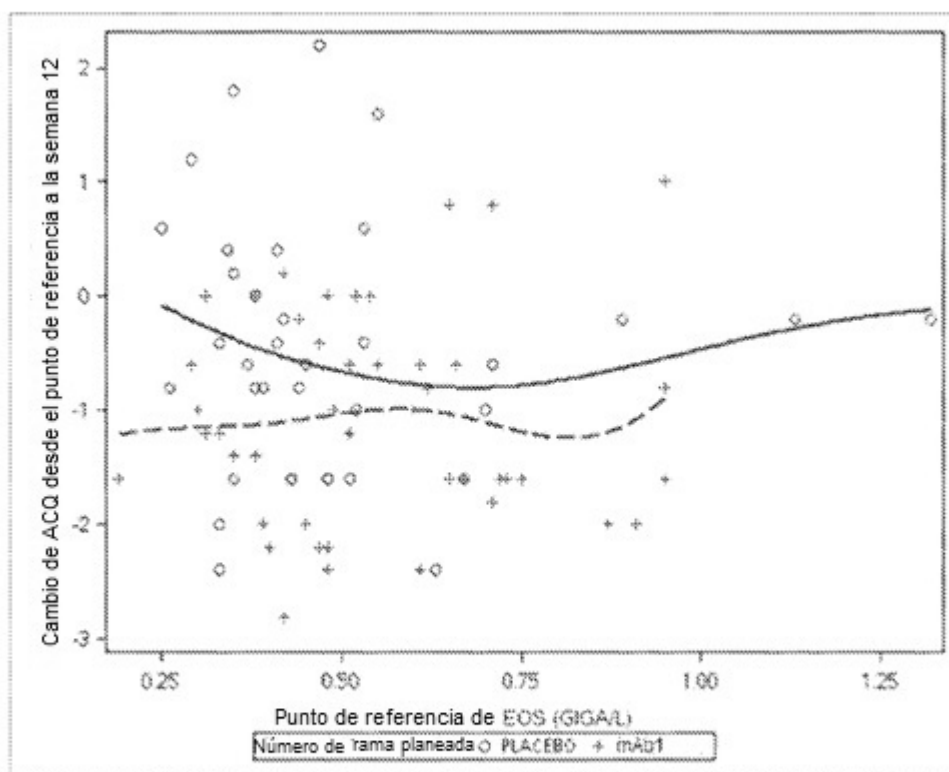


Figura 20

Uso de albuterol vs. eosinófilos en sangre

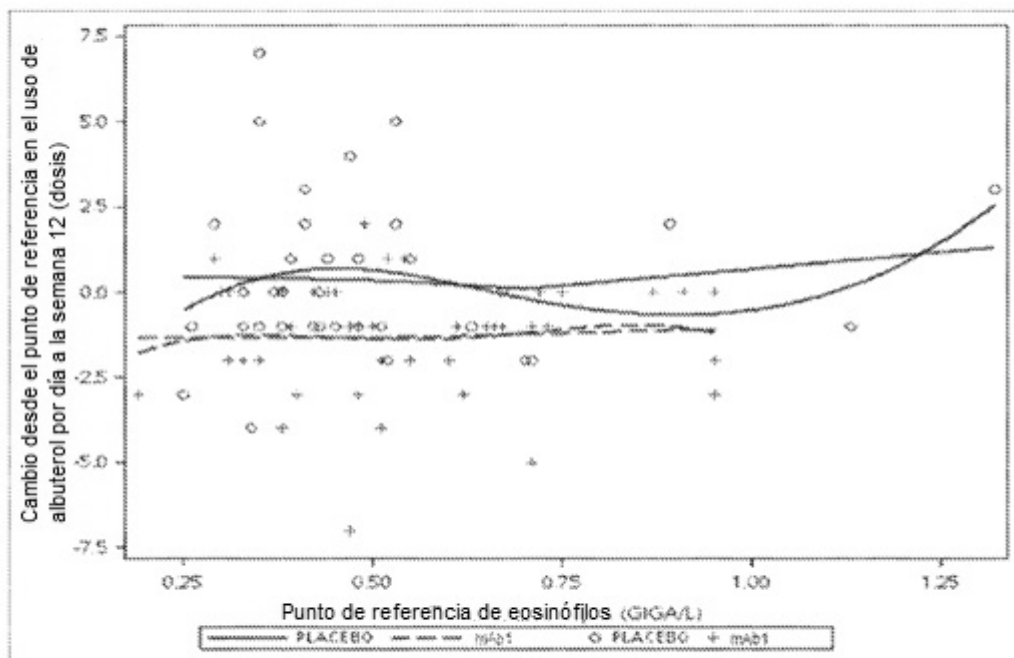


Figura 21

ACQ vs. periostina

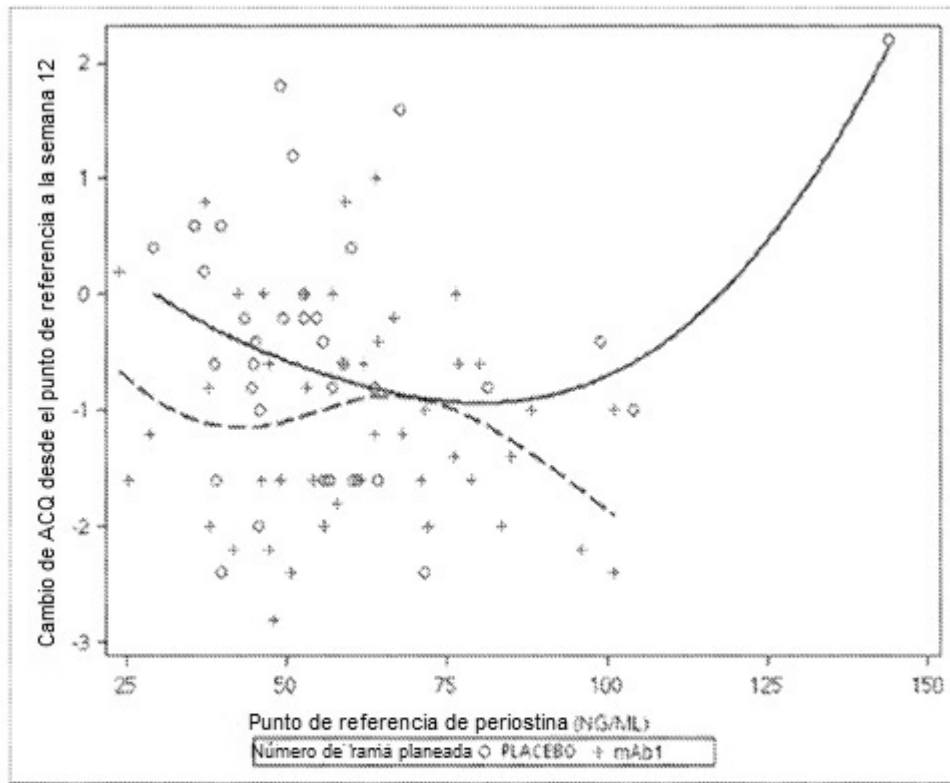


Figura 22

ACQ vs. YKL-40

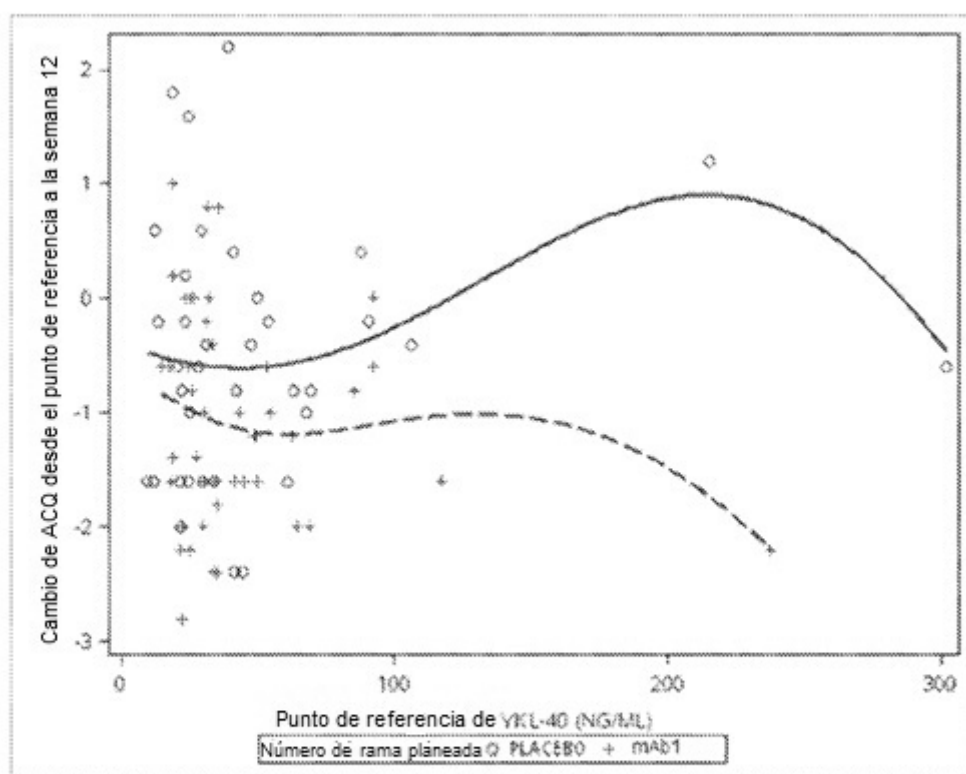


Figura 23

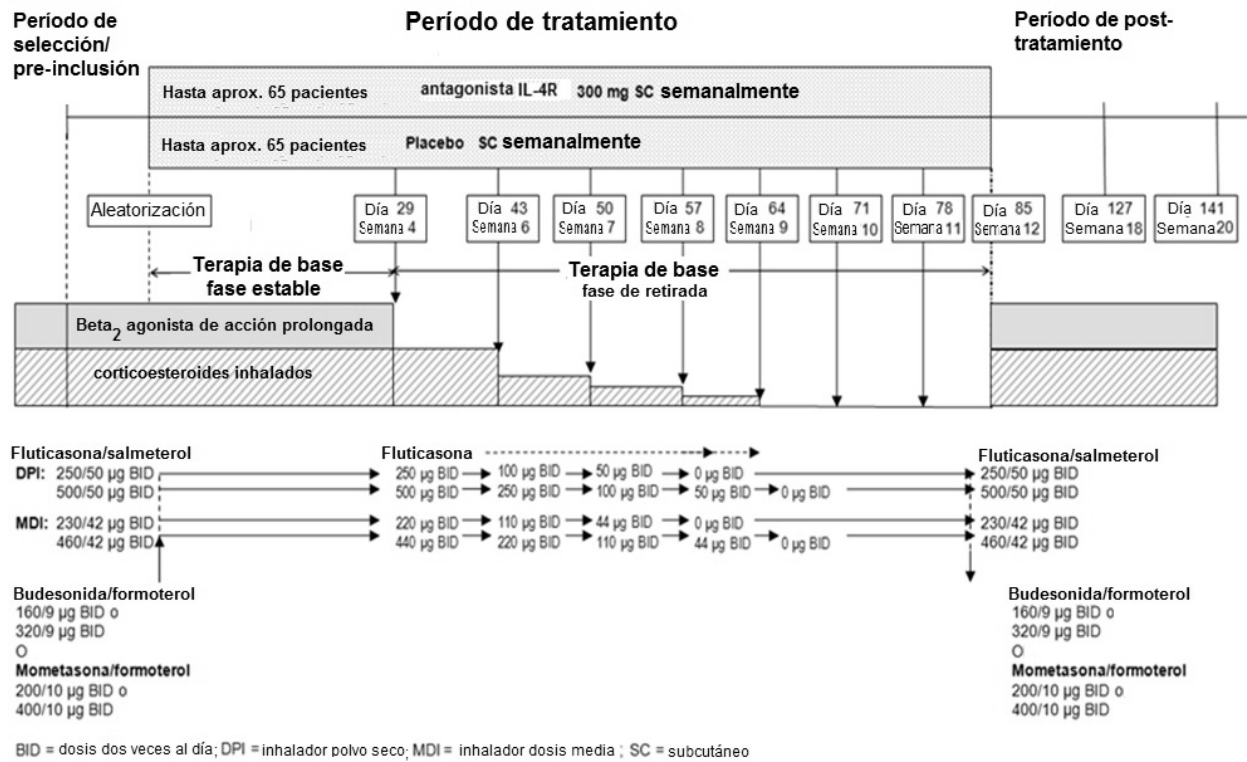


Figura 24

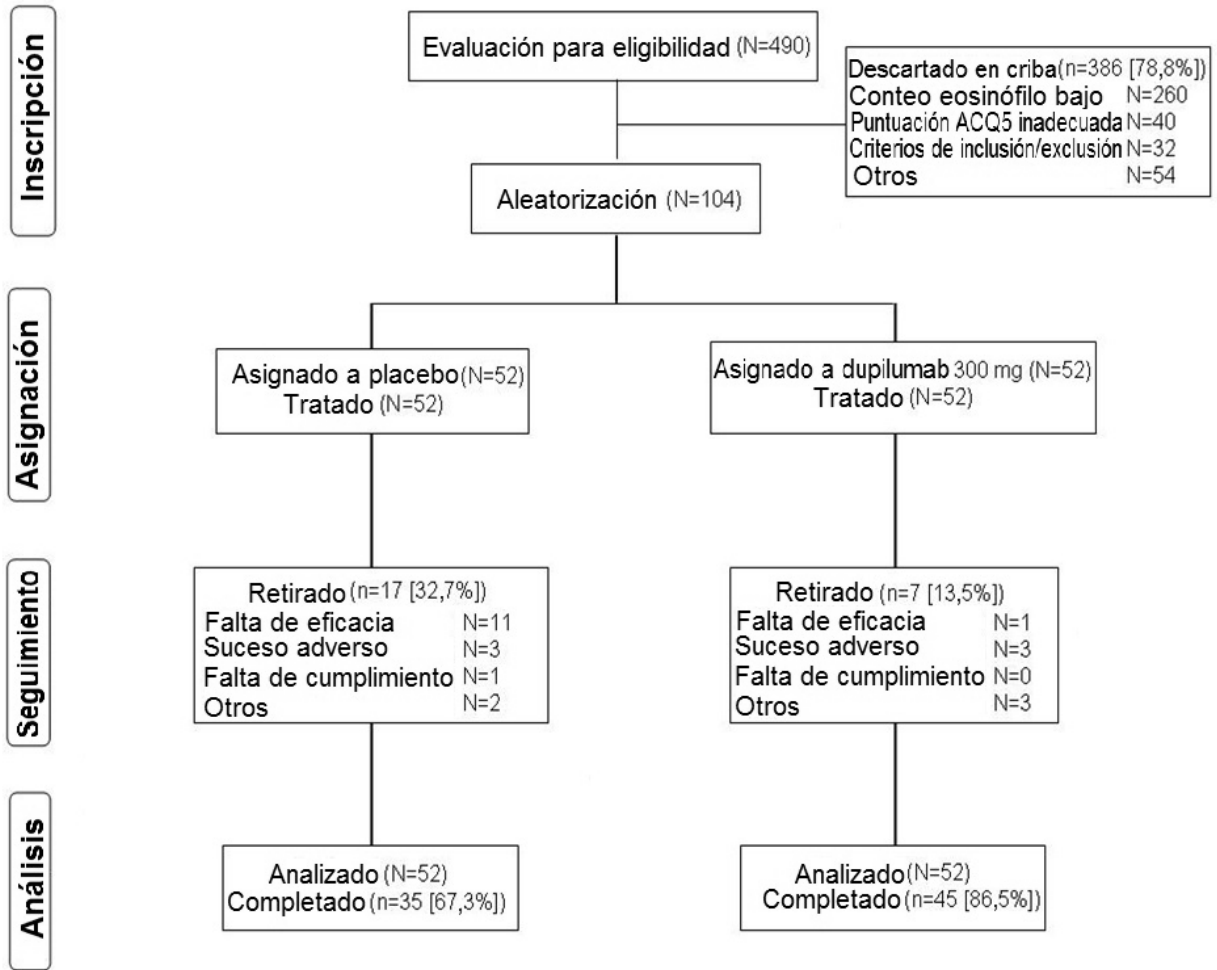


Figura 25

A) Síntomas de asma por la mañana

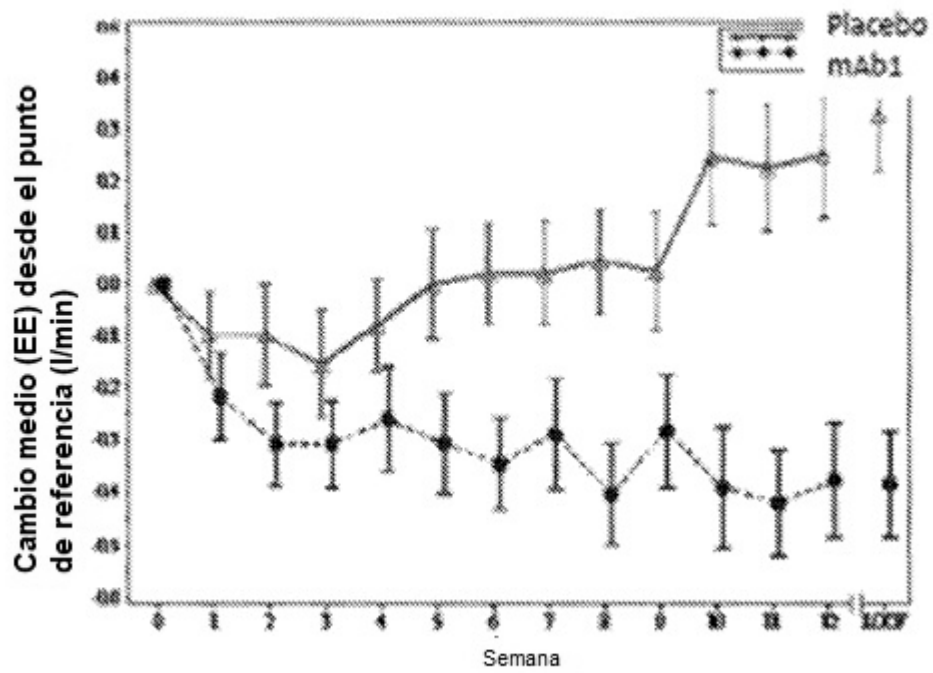


Figura 26A

B) Síntomas de asma por la tarde

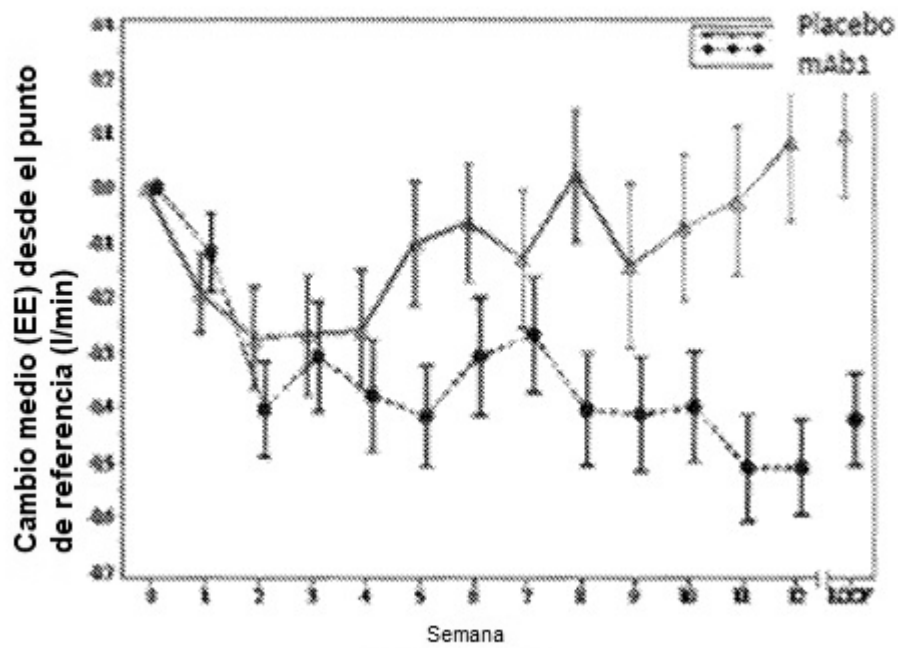


Figura 26B

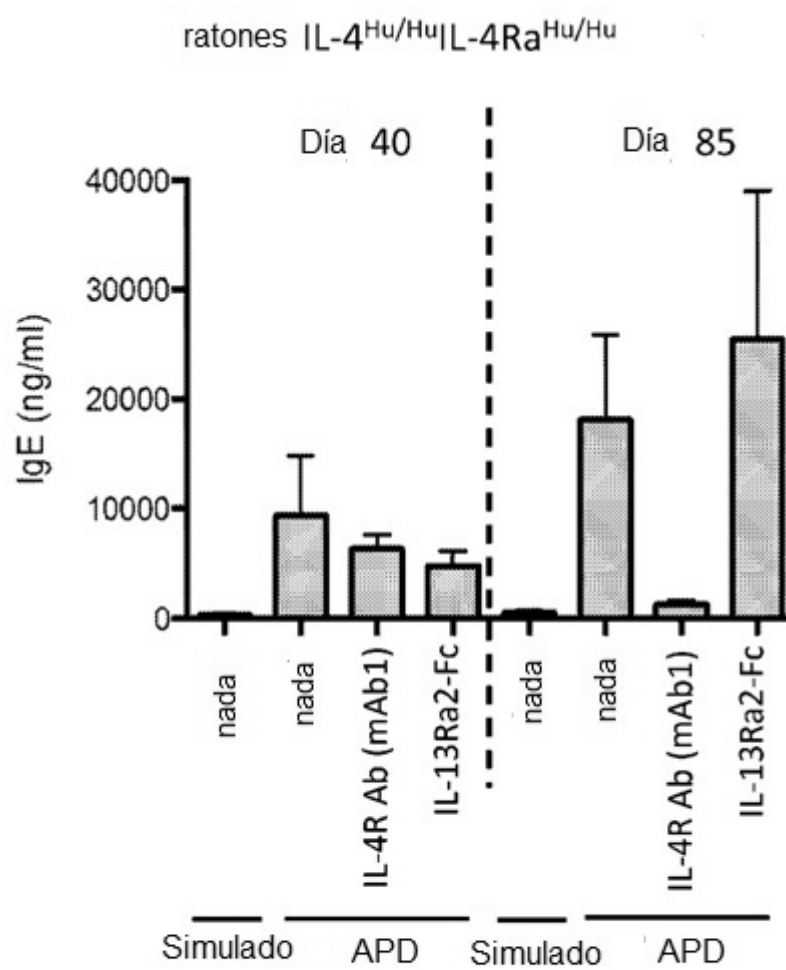


Figura 27

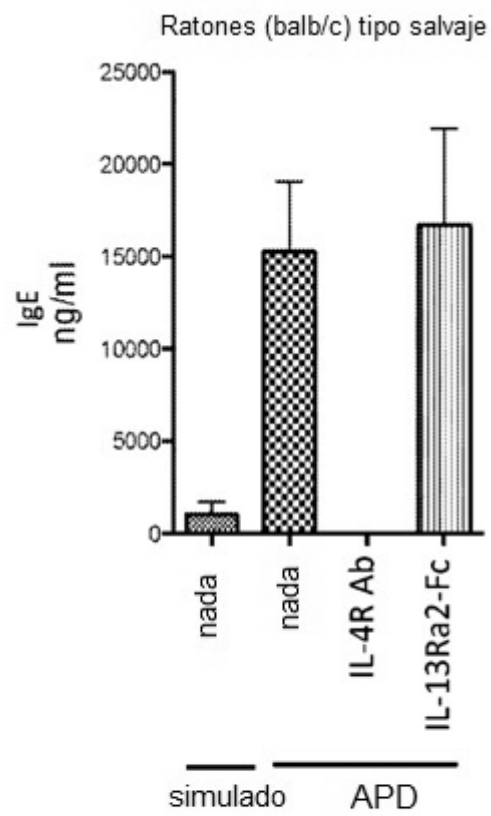


Figura 28

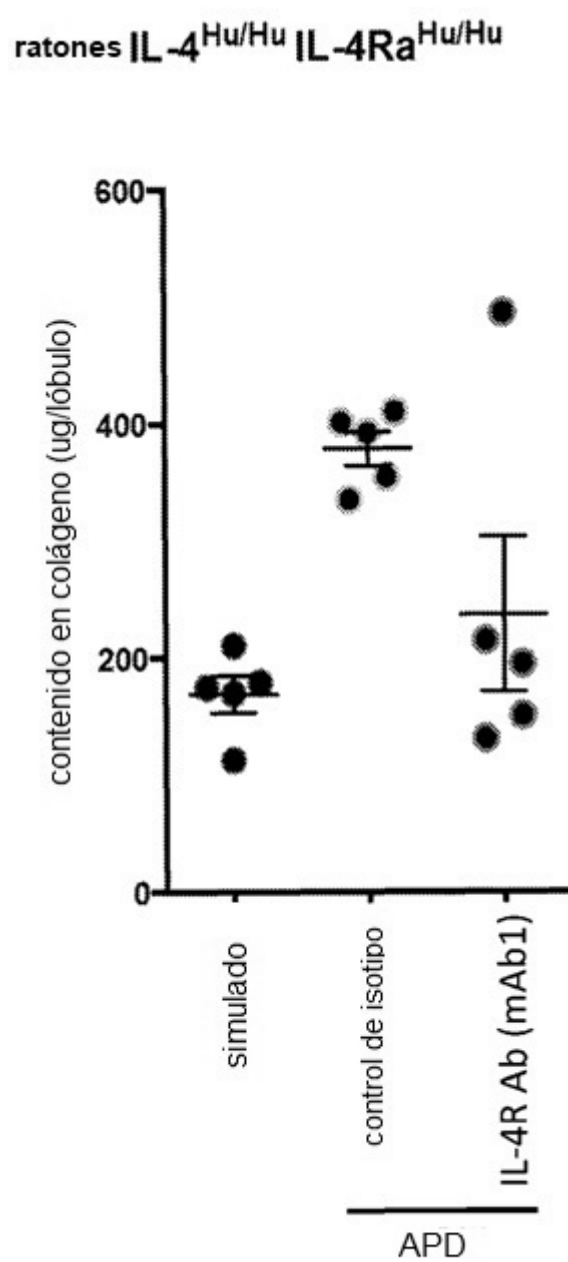


Figura 29

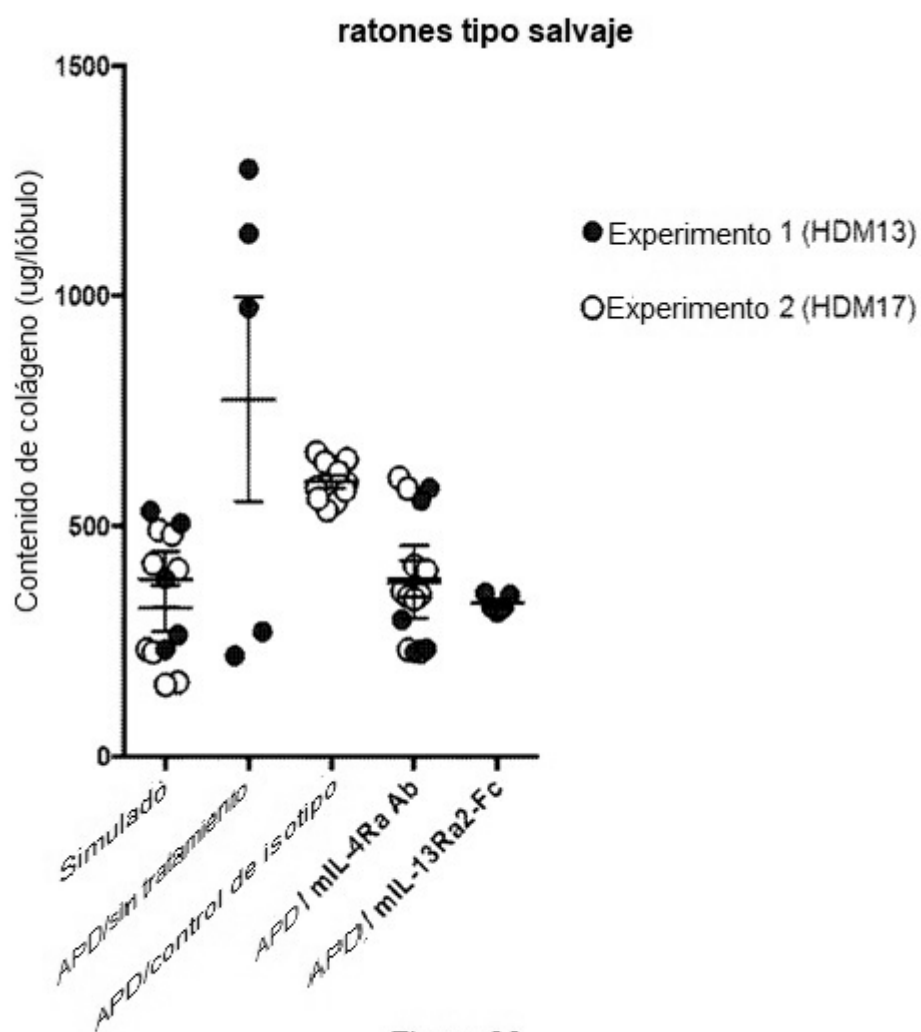


Figura 30

ratones IL-4^{Hu/Hu} IL-4Ra^{Hu/Hu}

Figura 31A

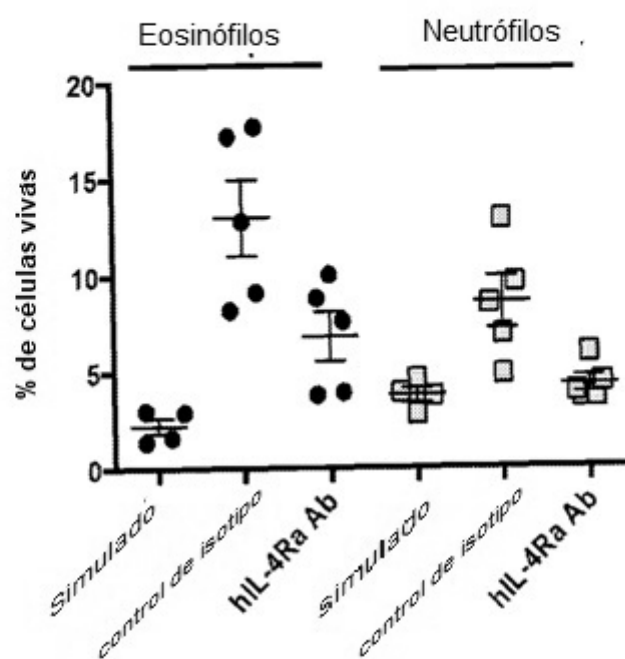


Figura 31B

