

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 742 505**

51 Int. Cl.:

**C07K 14/31** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **28.08.2014 PCT/EP2014/068259**

87 Fecha y número de publicación internacional: **05.03.2015 WO15028550**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.08.2014 E 14755841 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.06.2019 EP 3039033**

54 Título: **Polipéptidos de unión que tienen un andamio mutado**

30 Prioridad:

**28.08.2013 EP 13182022**

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

**14.02.2020**

73 Titular/es:

**AFFIBODY AB (100.0%)  
Gunnar Asplunds Allé 24  
171 69 Solna, SE**

72 Inventor/es:

**NORDLING, ERIK;  
NILSSON, JOAKIM y  
STRÖMBERG, PATRIK**

74 Agente/Representante:

**ELZABURU, S.L.P**

**ES 2 742 505 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

Polipéptidos de unión que tienen un andamio mutado

### Campo de la invención

5 La presente invención se refiere a nuevos polipéptidos, métodos de producción de los mismos y nuevas poblaciones de variantes de polipéptidos basadas en un andamio común. Las poblaciones pueden usarse, por ejemplo, para proporcionar nuevas proteínas y polipéptidos de unión.

### Antecedentes.

10 Se han descrito diferentes métodos para la construcción de nuevas proteínas de unión (Nygren PA y Uhlén M (1997) Curr Opin Struct Biol 7: 463-469). Una estrategia ha sido combinar la generación de bibliotecas y el cribado con la selección de las propiedades deseadas.

15 Los polipéptidos de la variante Z de primera generación basados en un andamio común de primera generación, la población de tales moléculas y los métodos que las implican se han descrito en el documento W095/19374. Además, los polipéptidos de la variante Z basados en un andamio de segunda generación, las poblaciones de tales moléculas y los métodos que los implican se han descrito en el documento WO2009/080811. Las enseñanzas de estas dos descripciones se incorporan al presente texto como referencia.

20 Para algunas aplicaciones, se desean polipéptidos o poblaciones de la variante Z de los mismos que tengan propiedades mejoradas, tales como una mayor estabilidad alcalina, baja antigenicidad, estabilidad estructural, capacidad de síntesis química e hidrofiliidad. El documento WO2009/080811 describe variantes Z que tienen un andamio común con propiedades mejoradas, pero no todas las propiedades deseadas pueden ser obtenidas por polipéptidos variantes Z, como se describe en el presente texto.

25 Uno de los factores clave para el éxito de los productos farmacéuticos polipeptídicos es su estabilidad. Lo más probable es que los polipéptidos que muestran una alta estabilidad estructural resistan funcionalmente las modificaciones químicas, los cambios en las condiciones físicas y la proteólisis, tanto durante la producción como dentro del cuerpo humano. Además, la estabilidad influirá en la vida útil activa de los productos farmacéuticos polipeptídicos, así como la vida activa del polipéptido farmacéutico dentro del cuerpo humano.

Por lo tanto, existe una continua necesidad de mejorar la estabilidad de los polipéptidos de variante Z.

### Descripción de la invención

Es un objeto de la presente invención proporcionar un polipéptido con un nuevo andamio, el cual polipéptido alivia los inconvenientes mencionados anteriormente, y otros, de los polipéptidos de la variante Z disponibles actualmente.

30 Otro objeto de la presente invención es proporcionar un método para la producción de un polipéptido basado en un nuevo andamiaje.

También es un objeto de la presente invención proporcionar una población de tales variantes polipeptídicas mejoradas, todas ellas basadas en un nuevo andamio.

Otro objeto de la presente invención es proporcionar una población de polinucleótidos.

35 Otro objeto más de la presente invención es proporcionar una combinación de una población de polipéptidos y una población de polinucleótidos.

Un objeto más de la presente invención es proporcionar un método para seleccionar un polipéptido deseado que tenga afinidad para una diana predeterminada de una población de polipéptidos.

40 Otro objeto es proporcionar un método para aislar un polinucleótido que codifica un polipéptido deseado que tenga afinidad para una diana predeterminada.

Otro objeto es proporcionar un método para identificar un polipéptido deseado que tenga afinidad para una diana predeterminada.

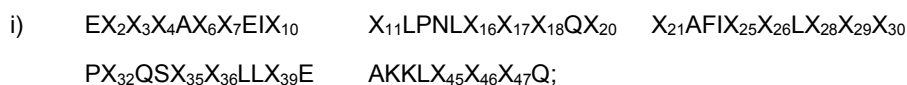
Otro objeto más es proporcionar un método para seleccionar e identificar un polipéptido deseado que tenga afinidad para una diana predeterminada.

45 Un objeto relacionado es proporcionar un método para la producción de un polipéptido deseado que tenga afinidad para una diana predeterminada.

Estos y otros objetos pueden lograrse mediante diferentes aspectos descritos en la presente solicitud.

## ES 2 742 505 T3

En un primer aspecto de la presente descripción se proporciona un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre



5 en donde cada uno de  $X_2, X_3, X_4, X_6, X_7, X_{10}, X_{11}, X_{17}, X_{18}, X_{20}, X_{21}, X_{25}$  y  $X_{28}$  corresponde independientemente a cualquier resto de aminoácido; y

en donde, independientemente entre ellos,

$X_{16}$  se selecciona entre N y T;

$X_{26}$  se selecciona entre K y S;

10  $X_{29}X_{30}PX_{32}$  se selecciona entre DDPS y RQPE;

$X_{35}$  se selecciona entre A y S;

$X_{36}$  se selecciona entre E y N;

$X_{39}$  se selecciona entre A, C y S;

$X_{45}$  se selecciona entre E, N y S;

15  $X_{46}$  se selecciona entre D, E y S;

$X_{47}$  se selecciona entre A y S; y

ii) una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 91% de identidad con la secuencia definida en i), siempre y cuando  $X_{46}$  no sea D cuando  $X_{45}$  es N.

20 Dentro de la secuencia polipeptídica i) anterior, cada aminoácido X definido como "que corresponde independientemente a cualquier aminoácido" corresponde individualmente a un resto de aminoácido que se selecciona entre todos los aminoácidos posibles. Más claramente, esto se aplica a las posiciones de aminoácidos correspondientes a las posiciones  $X_2, X_3, X_4, X_6, X_7, X_{10}, X_{11}, X_{17}, X_{18}, X_{20}, X_{21}, X_{25}$  y  $X_{28}$  en la secuencia i) anterior. Esto significa que cada uno de tales X puede ser cualquier resto de aminoácido, independientemente de la identidad de cualquier otro resto indicado como X en la secuencia. En la secuencia de aminoácidos, estos aminoácidos X pueden elegirse entre los 20 restos de aminoácidos de origen natural, de tal manera que cualquiera de estos 20 restos de aminoácidos puede estar presente en la posición X correspondiente en cualquier variante dada. La selección del resto de aminoácido en cada posición puede ser más o menos aleatoria. También es posible limitar el grupo del que se seleccionan los diferentes restos de aminoácidos variados a 19, 18, 17, 16 o menos, de los 20 restos de aminoácidos de origen natural. La variabilidad en diferentes posiciones se puede ajustar individualmente entre uno, lo que significa que no hay aleatorización, hasta los 20 aminoácidos. La introducción aleatoria de un subconjunto más pequeño de aminoácidos puede obtenerse mediante una selección cuidadosa de las bases de desoxirribonucleótidos introducidas, por ejemplo los codones T(A/C)C pueden introducirse para obtener una introducción aleatoria de serina o de tirosina en una posición dada en la cadena polipeptídica. Del mismo modo, los codones (T/C/A/G)CC pueden introducirse para obtener una introducción aleatoria de fenilalanina, leucina, alanina y valina en una posición dada en la cadena polipeptídica. El experto en la materia está al tanto de muchas alternativas de combinaciones de bases de desoxirribonucleótidos que pueden usarse para obtener diferentes combinaciones de aminoácidos en una posición en la cadena polipeptídica dada. El conjunto de aminoácidos que pueden aparecer en una posición en la cadena polipeptídica dada también se puede determinar mediante la introducción de trinucleótidos durante la síntesis de oligonucleótidos, en vez de una base de desoxirribonucleótido a la vez. También se puede obtener un conjunto definido de aminoácidos utilizando la síntesis de agrupación dividida que permite la incorporación de codones definidos en posiciones deseables en la síntesis. Otra alternativa más para obtener enlazadores de doble cadena aleatorizados es incorporando conjuntos aleatorizados de bloques de construcción de trinucleótidos utilizando ligaduras y restricciones del ADN bicatenario construido posteriormente.

45 En una realización de la presente descripción, se proporciona un polipéptido que tiene afinidad para una diana predeterminada. En una de tales realizaciones, los restos de aminoácidos que confieren especificidad de unión a la diana son los de las posiciones correspondientes a las posiciones 2, 3, 4, 6, 7, 10, 11, 17, 18, 20, 21, 25 y 28 en la secuencia i) anterior. Del mismo modo, en un polipéptido así, los restos de aminoácidos que no confieren especificidad de unión a la diana se denominan "aminoácidos de andamiaje" o simplemente "andamiaje". Por consiguiente, en una realización, los restos de aminoácidos de andamiaje como se definen en este documento son los de las posiciones correspondientes a las posiciones 1, 5, 8, 9, 12-15, 19, 22-24, 27, 31, 33-34, 37-38, 40-44 y 48 en la secuencia i) anterior. Un experto en la técnica apreciará que las propiedades ventajosas conferidas por los aminoácidos de los polipéptidos como se definen en el presente documento son independientes de la especificidad de unión con la diana de dicho polipéptido.

- Como apreciará el experto en la técnica, la función de cualquier polipéptido, tal como el polipéptido de la presente descripción, depende de la estructura terciaria de dicho polipéptido. Por tanto es posible realizar cambios menores en la secuencia de aminoácidos de un polipéptido sin afectar a la función de los mismos. Por lo tanto, la descripción abarca variantes modificadas de dicho polipéptido que no alteran las propiedades funcionales del polipéptido, tales como su estabilidad mejorada y/o su afinidad de unión por una diana predeterminada.
- De esta forma, la presente descripción también abarca un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos con 91% de identidad, o más, con una secuencia definida en i). En algunas realizaciones, el polipéptido puede comprender una secuencia que es al menos el 93%, tal como al menos el 95%, tal como al menos el 97% idéntica a la secuencia definida en i).
- En algunas realizaciones, tales diferencias entre las definiciones de secuencia i) y ii) pueden encontrarse en cualquier posición de la secuencia del polipéptido como se describe en el presente documento. En otras realizaciones, dichos cambios se pueden encontrar tan solo en los restos de aminoácidos del andamiaje. En otras realizaciones, los cambios pueden encontrarse solo en los restos de aminoácidos que confieren especificidad de unión a la diana. Por ejemplo, es posible que un resto de aminoácido que pertenece a un cierto grupo funcional de restos de aminoácidos (por ejemplo, hidrófobo, hidrófilo, polar, etc.) pueda intercambiarse por otro resto de aminoácido del mismo grupo funcional.
- La expresión "% de identidad", tal como se utiliza en toda la especificación, se puede calcular, por ejemplo, de la manera que sigue. La secuencia problema se alinea con la secuencia diana utilizando el algoritmo CLUSTAL W (Thompson et al, Nucleic Acids Research, 22: 4673-4680 (1994)). Se hace una comparación sobre la ventana correspondiente a una de las secuencias alineadas, por ejemplo la más corta. En algunos casos la ventana puede definirse por la secuencia diana. En otros casos, la ventana puede definirse por la secuencia problema. Se comparan los restos de aminoácidos en cada posición, y el porcentaje de posiciones en la secuencia problema que tienen correspondencias idénticas en la secuencia objetivo se reporta como "% de identidad".
- Cuando se usan como andamios para polipéptidos de unión, las secuencias descritas en este documento proporcionan ventajas en comparación con andamios similares conocidos, y se han diseñado para mostrar una alta estabilidad estructural y, por tanto, una mejor vida útil de almacenamiento. Estas ventajas también se aplican al tercer aspecto de la divulgación (véase más adelante), que se relaciona con las poblaciones de las variantes de polipéptido de este primer aspecto.
- En una realización de la presente descripción,  $X_{16}$  es T.
- En una realización,  $X_{26}$  es K.
- En una realización,  $X_{29}X_{30}PX_{32}$  es DDPS.
- En una realización,  $X_{29}X_{30}PX_{32}$  es RQPE.
- En una realización,  $X_{35}$  es S.
- En una realización,  $X_{36}$  es E.
- En una realización,  $X_{39}$  es S.
- En una realización,  $X_{45}$  se selecciona entre E y S.
- En una realización,  $X_{45}$  es E.
- En una realización,  $X_{45}$  es S.
- En una realización,  $X_{46}$  se selecciona entre E y S.
- En una realización,  $X_{46}$  es E.
- En una realización,  $X_{46}$  es S.
- En una realización,  $X_{46}$  es D.
- En una realización,  $X_{46}$  no es D o E cuando  $X_{45}$  es N.
- En una realización,  $X_{45}X_{46}$  se selecciona entre EE, ES, SE y SS, tal como de ES y SE.
- En una realización,  $X_{45}X_{46}$  es ES.
- En una realización,  $X_{45}X_{46}$  es SE.
- En una realización,  $X_{45}X_{46}$  es SD.

En una realización,  $X_{47}$  es S.

La expresión "afinidad de unión para una diana predeterminada", como se usa en esta memoria, se refiere a una propiedad de un polipéptido que se puede probar, por ejemplo, mediante el uso de tecnología de resonancia de plasmones superficiales (SPR). Por ejemplo, dicha afinidad de unión se puede probar en un experimento en el que la diana predeterminada, o un fragmento de la misma, se inmoviliza en un *chip* sensor del instrumento, y la muestra que contiene el polipéptido a analizar se pasa sobre el *chip*. Alternativamente, el polipéptido a probar se inmoviliza en un *chip* sensor del instrumento, y una muestra que contiene el objetivo predeterminado, o un fragmento del mismo, se pasa sobre el *chip*. El profesional experto en la materia puede interpretar entonces los resultados obtenidos por tales experimentos para establecer al menos una medida cualitativa de la afinidad de unión del polipéptido por la diana predeterminada. Si se desea una medida cuantitativa, por ejemplo, para determinar un valor de  $K_D$  para la interacción, también se pueden usar métodos de resonancia de plasmones superficiales. Los valores de unión pueden definirse, por ejemplo, en un instrumento Biacore (GE Healthcare) o ProteOn XPR 36 (Bio-Rad). La diana predeterminada se inmoviliza adecuadamente en un *chip* sensor del instrumento, y se preparan las muestras del polipéptido cuya afinidad se va a determinar mediante dilución en serie y se inyectan por orden aleatorio. Los valores  $K_D$  se pueden calcular entonces a partir de los resultados utilizando, por ejemplo, el modelo de enlace de Langmuir 1:1 del software BIAevaluation 4.1, u otro software adecuado, proporcionado por el fabricante del instrumento.

La expresión "afinidad de unión para una diana predeterminada", como se usa en este documento, puede también referirse a una propiedad de un polipéptido que puede analizarse, por ejemplo, mediante ELISA. Por ejemplo, la afinidad de unión se puede probar en un experimento en el que las muestras del polipéptido se capturan en placas de ELISA recubiertas con anticuerpo y diana predeterminada biotinilada, o un fragmento de las mismas, seguido de HRP conjugada con estreptavidina. Se agrega el sustrato TMB y se mide la absorbancia a 450 nm utilizando un lector de placas de pocillos múltiples, como Victor<sup>3</sup> (Perkin Elmer). El profesional experto en la materia puede interpretar los resultados obtenidos por tales experimentos para establecer al menos una medida cualitativa de la afinidad de unión del complejo por el objetivo predeterminado. Si se desea una medida cuantitativa, por ejemplo para determinar el valor de EC50 (la concentración efectiva máxima mitad) para la interacción, también se puede usar ELISA. La respuesta del polipéptido frente a una serie de dilución de la diana predeterminada, o un fragmento de la misma, se mide utilizando ELISA como se describe anteriormente. El experto en la materia puede interpretar entonces los resultados obtenidos por tales experimentos, y los valores de EC50 pueden calcularse a partir de los resultados utilizando, por ejemplo, GraphPad Prism 5 y regresión no lineal.

Como se describió anteriormente, se cree que los polipéptidos variantes Z constituyen o forman parte de un dominio de proteína de haz de tres hélices (*thri-hélix bundle protein*), el motivo que tiene afinidad para una diana predeterminada que esencialmente forma parte de dos hélices alfa con un bucle de interconexión, dentro de dicho dominio de proteína de haz de tres hélices.

Se pueden realizar diferentes modificaciones y/o adiciones al polipéptido como se definió anteriormente con el fin de adaptar el polipéptido al uso específico pretendido, sin apartarse del alcance de la presente invención.

Dichas modificaciones y adiciones se describen con más detalle a continuación, y pueden comprender aminoácidos adicionales comprendidos en la misma cadena polipeptídica, o marcadores y/o agentes terapéuticos que están conjugados químicamente o unidos de otra forma al polipéptido.

Por tanto, en una realización se proporciona un polipéptido como se describe anteriormente que comprende restos de aminoácidos adicionales. En algunas realizaciones, los restos de aminoácidos adicionales pueden localizarse en el extremo C del polipéptido. En algunas realizaciones, los restos de aminoácidos adicionales pueden localizarse en el extremo N del polipéptido.

En una realización, dichos restos de aminoácidos adicionales en el extremo C comprenden AP.

En una realización, dichos restos de aminoácidos adicionales en el extremo N comprenden AEAQYAK.

En otra realización más, se proporciona un polipéptido como se describe anteriormente, que consiste en la secuencia de i) o ii) que tiene de 0 a 7 restos de aminoácido adicionales en el extremo N-terminal y de 0 a 3 restos aminoácido adicionales en el extremo C.

Los restos de aminoácidos adicionales pueden desempeñar un papel en la unión del polipéptido, pero igualmente pueden servir para otros fines relacionados, por ejemplo, con uno o más entre la producción, la purificación, la estabilización, el acoplamiento o la detección del polipéptido. En algunas realizaciones, dichos restos de aminoácidos adicionales constituyen uno o más dominios de polipéptidos.

Tales restos de aminoácidos adicionales pueden comprender uno o más restos de aminoácidos añadidos con el propósito de acoplamiento químico. Un ejemplo de esto es la adición de un resto de cisteína en la primera o en la última posición en la cadena polipeptídica, es decir, en el extremo N- o C-terminal. También se puede introducir un resto de cisteína a usar para el acoplamiento químico mediante el reemplazo de otro aminoácido en la superficie del dominio de la proteína, preferiblemente en una porción de la superficie que no está implicada en la unión a la diana. Tales restos de aminoácidos adicionales también pueden comprender una "etiqueta" para la purificación o la detección

del polipéptido, tal como una etiqueta de hexahistidilo (His6), o una etiqueta "myc" o una etiqueta "FLAG" para la interacción con anticuerpos específicos a la etiqueta. Los profesionales expertos están al tanto de otras alternativas.

5 Los "restos de aminoácidos adicionales" discutidos anteriormente también pueden constituir uno o más dominios polipeptídicos con cualquier función deseada, tal como otra función de unión, o una función de extensión de la vida mitad, o una función enzimática, o una función quelante de iones metálicos, o una función fluorescente, o cualquier combinación de los mismos.

En un ejemplo de realización, se proporciona un compuesto que tiene afinidad para una diana predeterminada, comprendiendo dicho compuesto:

- 10 a) al menos un polipéptido como se definió anteriormente;
- b) al menos un dominio de unión a la albúmina de la proteína G estreptocócica, o un derivado de la misma; y
- c) opcionalmente, al menos un resto enlazador para unir dicho al menos un dominio de unión a la albúmina o un derivado del mismo al extremo C o N de dicho al menos un polipéptido.

Los ejemplos no limitantes de derivados del dominio de unión a albúmina de la proteína G estreptocócica se describen en los documentos WO2009/016043 y WO2012/004384.

15 También, en otra realización, se proporciona un polipéptido como se define anteriormente, que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre:

YAK EX<sub>2</sub>X<sub>3</sub>X<sub>4</sub>AX<sub>6</sub>X<sub>7</sub>EIX<sub>10</sub> X<sub>11</sub>LPNLX<sub>16</sub>X<sub>17</sub>X<sub>18</sub>QX<sub>20</sub> X<sub>21</sub>AFIX<sub>25</sub>X<sub>26</sub>LX<sub>28</sub>X<sub>29</sub>X<sub>30</sub>

PX<sub>32</sub>QSX<sub>35</sub>X<sub>36</sub>LLX<sub>39</sub>E AKKLX<sub>45</sub>X<sub>46</sub>X<sub>47</sub>Q AP; y

FNK EX<sub>2</sub>X<sub>3</sub>X<sub>4</sub>AX<sub>6</sub>X<sub>7</sub>EIX<sub>10</sub> X<sub>11</sub>LPNLX<sub>16</sub>X<sub>17</sub>X<sub>18</sub>QX<sub>20</sub> X<sub>21</sub>AFIX<sub>25</sub>X<sub>26</sub>LX<sub>28</sub>X<sub>29</sub>X<sub>30</sub>

20 PX<sub>32</sub>QSX<sub>35</sub>X<sub>36</sub>LLX<sub>39</sub>E AKKLX<sub>45</sub>X<sub>46</sub>X<sub>47</sub>Q AP

en donde cada X<sub>y</sub> se define como anteriormente (e y señala la posición de aminoácido del resto X dentro de la secuencia de polipéptido definida por i) anteriormente).

En algunas realizaciones, se proporciona un polipéptido, que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre

25 ADNNFNK EX<sub>2</sub>X<sub>3</sub>X<sub>4</sub>AX<sub>6</sub>X<sub>7</sub>EIX<sub>10</sub> X<sub>11</sub>LPNLX<sub>16</sub>X<sub>17</sub>X<sub>18</sub>QX<sub>20</sub>

X<sub>21</sub>AFIX<sub>25</sub>X<sub>26</sub>LX<sub>28</sub>X<sub>29</sub>X<sub>30</sub> PX<sub>32</sub>QSX<sub>35</sub>X<sub>36</sub>LLX<sub>39</sub>E AKKLX<sub>45</sub>X<sub>46</sub>X<sub>47</sub>Q APK;

ADNKFNK EX<sub>2</sub>X<sub>3</sub>X<sub>4</sub>AX<sub>6</sub>X<sub>7</sub>EIX<sub>10</sub> X<sub>11</sub>LPNLX<sub>16</sub>X<sub>17</sub>X<sub>18</sub>QX<sub>20</sub>

X<sub>21</sub>AFIX<sub>25</sub>X<sub>26</sub>LX<sub>28</sub>X<sub>29</sub>X<sub>30</sub> PX<sub>32</sub>QSX<sub>35</sub>X<sub>36</sub>LLX<sub>39</sub>E AKKLX<sub>45</sub>X<sub>46</sub>X<sub>47</sub>Q APK;

VDNKFNK EX<sub>2</sub>X<sub>3</sub>X<sub>4</sub>AX<sub>6</sub>X<sub>7</sub>EIX<sub>10</sub> X<sub>11</sub>LPNLX<sub>16</sub>X<sub>17</sub>X<sub>18</sub>QX<sub>20</sub>

30 X<sub>21</sub>AFIX<sub>25</sub>X<sub>26</sub>LX<sub>28</sub>X<sub>29</sub>X<sub>30</sub> PX<sub>32</sub>QSX<sub>35</sub>X<sub>36</sub>LLX<sub>39</sub>E AKKLX<sub>45</sub>X<sub>46</sub>X<sub>47</sub>Q APK;

VDAKIAK EX<sub>2</sub>X<sub>3</sub>X<sub>4</sub>AX<sub>6</sub>X<sub>7</sub>EIX<sub>10</sub> X<sub>11</sub>LPNLX<sub>16</sub>X<sub>17</sub>X<sub>18</sub>QX<sub>20</sub>

X<sub>21</sub>AFIX<sub>25</sub>X<sub>26</sub>LX<sub>28</sub>X<sub>29</sub>X<sub>30</sub> PX<sub>32</sub>QSX<sub>35</sub>X<sub>36</sub>LLX<sub>39</sub>E AKKLX<sub>45</sub>X<sub>46</sub>X<sub>47</sub>Q APK; y

AEAKIAK EX<sub>2</sub>X<sub>3</sub>X<sub>4</sub>AX<sub>6</sub>X<sub>7</sub>EIX<sub>10</sub> X<sub>11</sub>LPNLX<sub>16</sub>X<sub>17</sub>X<sub>18</sub>QX<sub>20</sub>

X<sub>21</sub>AFIX<sub>25</sub>X<sub>26</sub>LX<sub>28</sub>X<sub>29</sub>X<sub>30</sub> PX<sub>32</sub>QSX<sub>35</sub>X<sub>36</sub>LLX<sub>39</sub>E AKKLX<sub>45</sub>X<sub>46</sub>X<sub>47</sub>Q APK;

35 en donde X<sub>y</sub> se define como se describió anteriormente (e y denota la posición de aminoácido del resto X dentro de la secuencia polipeptídica definida por i) más arriba).

Las variantes de polipéptido descritas en el presente documento pueden generarse tomando un polipéptido variante Z, por ejemplo basado en un andamiaje conocido y que tenga afinidad para una diana dada, y realizando una mutagénesis dirigida al sitio en posiciones seleccionadas para obtener un polipéptido que tenga un andamio según el presente descripción, reteniendo la afinidad de la diana. Alternativamente, un polipéptido de acuerdo con la presente descripción puede hacerse mediante síntesis química de la molécula completa o usando otros métodos de biología molecular, conocidos por los expertos en la técnica, para injertar el motivo de unión de un polipéptido variante Z en el andamio descrito en el presente texto.

45 Como ilustración general, polipéptidos de la variante Z originales que comprenden la siguiente secuencia de andamiaje común y que tienen una especificidad de unión definida por la secuencia de aminoácidos dentro de un motivo de unión [BM]:

AEAKYAK- [BM] -DDPSQSSELL SEAKKLNSQ APK

puede modificarse para proporcionar un polipéptido como se describe en el presente documento.

En varias realizaciones específicas de este aspecto de la descripción, se proporcionan los siguientes polipéptidos:

AEAKYAK- [BM] -RQPEQSSELL SEAKKLNSQ APK

5 AEAKEYAK- [BM] -DDPSQSSELL SEAKKLSSEQ APK

AEAKYAK- [BM] -DDPSQSSELL SEAKKLESSQ APK

AEAKYAK- [BM] -DDPSQSSELL SEAKKLSDSQ APK

AEAKYAK- [BM] -DDPSQSSELL SEAKKLNESQ APK

AEAKYAK- [BM] -RQPEQSSELL SEAKKLSSEQ APK

10 AEAKEYAK- [BM] -RQPEQSSELL SEAKKLESSQ APK

AEAKYAK- [BM] -RQPEQSSELL SEAKKLSDSQ APK

AEAKYAK- [BM] -RQPEQSSELL SEAKKLNSQ APK

Los polipéptidos descritos en el presente documento tienen muchas aplicaciones, por ejemplo, aplicaciones de importancia terapéutica, de diagnóstico o de pronóstico para una enfermedad. Una lista no limitante de enfermedades, en la que dichos polipéptidos pueden encontrar un uso terapéutico, de diagnóstico o de pronóstico, incluye cáncer, enfermedades inflamatorias, enfermedades autoinmunes, enfermedades infecciosas, enfermedades neurológicas, enfermedades neurodegenerativas, enfermedades oculares, enfermedades renales, enfermedades pulmonares, enfermedades del tracto gastrointestinal, enfermedades cardiovasculares, enfermedades hematológicas, enfermedades dermatológicas, alergias y otras.

Así pues, en una realización se proporciona un polipéptido con afinidad para una diana predeterminada. En realizaciones más específicas, dicha diana se selecciona entre el grupo que consiste en HER2, TNFa, EGFR, IGF1R, IgG, PDGFR $\beta$ , HER3, C5, FcRn, CAIX, amiloide  $\beta$ , CD4, IL8, IL6 e insulina. En otras realizaciones, dicho polipéptido puede ser usado en aplicaciones biotecnológicas, industriales y farmacéuticas, por ejemplo el uso como un ligando de afinidad en tecnología de separación, aplicaciones de purificación o como agente de detección. En una realización más específica de este tipo, la diana predeterminada puede ser un dominio de unión con la albúmina ("ABD" o "módulo GA") de la proteína G estreptocócica, o un derivado de la misma.

El profesional experto en la materia apreciará que la lista de objetivos predeterminados debe considerarse no limitante, y que los polipéptidos como se definen en este documento con afinidad por otras dianas predeterminadas están dentro del alcance de la presente descripción.

Los ejemplos no limitantes de polipéptidos variantes Z conocidos, basados en un andamio conocido y que tienen afinidad por diferentes dianas, son variantes Z con afinidad por el receptor de EGF (descrito en el documento WO2007/065635), para el receptor HER2 (descrito en el documento WO2009/080810), para el receptor HER3 (descrito en el documento WO2010/056124), para el receptor IGF1 (descrito en el documento WO2009/019117), para el receptor  $\beta$  PDGF (descrito en el documento WO2009/077175), para el dominio de unión a la albúmina (ABD) (descrito en el documento WO2014/064237), para el receptor de Fc neonatal (FcRn) (descrito en PCT/EP2014/055299) y para la anhidrasa carbónica IX (descrito en el documento WO2014/096163). Téngase en cuenta, para mayor claridad, que en la presente descripción un motivo de unión de la variante Z [BM] corresponde a los primeros 28 restos de aminoácidos de los motivos de unión descritos en los documentos enumerados anteriormente, en los que las definiciones de motivos de unión son 29 restos de aminoácidos y corresponden a los restos de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 1-29 de la secuencia i) anterior.

En una realización, se proporciona un polipéptido con afinidad para una diana predeterminada, que comprende además una etiqueta, tal como una etiqueta seleccionada entre el grupo que consiste en tintes fluorescentes y metales, colorantes cromóforos, compuestos quimioluminiscentes y proteínas bioluminiscentes, enzimas, radionucleidos y partículas. Tales etiquetas pueden usarse, por ejemplo, para la detección del polipéptido.

En algunas realizaciones, el polipéptido está presente como resto en un polipéptido de fusión o conjugado que también comprende un segundo resto que tiene una actividad biológica deseada. Los ejemplos no limitantes de dicha actividad biológica deseada comprenden una actividad terapéutica, una actividad de unión y una actividad enzimática.

En algunas realizaciones, dicho resto comprende además un marcador. En algunos casos, el marcador se puede acoplar solo al polipéptido con afinidad para una diana predeterminada, y en algunos casos tanto al polipéptido con afinidad para una diana predeterminada como al segundo resto del conjugado o polipéptido de fusión. Además, también es posible que el marcador se pueda acoplar solo a un segundo resto y no al polipéptido con afinidad para

una diana predeterminada. Por lo tanto, en otra realización más se proporciona un polipéptido con afinidad para una diana predeterminada que comprende un segundo resto, en el que dicho marcador está acoplado solamente al segundo resto.

5 En la presente memoria, los polipéptidos o los polipéptidos de fusión se pueden usar como reactivos de detección, reactivos de captura, como reactivos de separación, como agentes de diagnóstico para diagnóstico *in vivo* o *in vitro*, o como agentes terapéuticos. Los métodos que emplean los polipéptidos o los polipéptidos de fusión de acuerdo con la presente descripción *in vitro* pueden realizarse en diferentes formatos, tales como en placas de microtitulación, en matrices de proteínas, en superficies de biosensores, en secciones de tejido, etc.

10 También debe entenderse que el polipéptido o los polipéptidos de fusión de acuerdo con la presente descripción pueden ser útiles como agentes terapéuticos, de diagnóstico o de pronóstico, por sí mismos o como un medio para dirigirse a otros agentes terapéuticos, de diagnóstico o de pronóstico, por ejemplo con efectos directos o indirectos sobre dicha diana. Se puede conseguir un efecto terapéutico directo, por ejemplo, inhibiendo la señalización por dicha diana. Dicho objetivo también puede servir como marcador valioso para predecir el pronóstico de ciertas enfermedades (por ejemplo, las enfermedades listadas anteriormente).

15 Por lo tanto, en una realización se proporciona un polipéptido o un polipéptido de fusión como se describe en el presente documento para uso en terapia o para uso como agente de diagnóstico. En otra realización, dicho polipéptido o polipéptido de fusión comprende además un agente terapéutico. Los ejemplos no limitantes de dichos agentes terapéuticos son un agente terapéutico que potencia el efecto de dicho polipéptido o polipéptido de fusión, un agente terapéutico que actúa en sinergia con dicho polipéptido o polipéptido de fusión, y un agente terapéutico que afecta a un aspecto diferente de la enfermedad a tratar. También se contemplan composiciones farmacéuticas que comprenden polipéptidos como se describe en el presente documento, solos o junto con otros agentes terapéuticos.

20 En un segundo aspecto de la presente descripción, se proporciona un polinucleótido que codifica un polipéptido o un polipéptido de fusión como se describe en el presente documento. Esta descripción abarca también un método para producir un polipéptido o un polipéptido de fusión como se describió anteriormente que comprende la expresión de tal polinucleótido; un vector de expresión que comprende el polinucleótido; y una célula hospedadora que comprende dicho vector de expresión.

25 En un tercer aspecto de la presente descripción, se proporciona una población de variantes de polipéptido basada en un andamio común, comprendiendo cada polipéptido de la población una secuencia de aminoácidos seleccionada entre:

30 i)  $EX_2X_3X_4AX_6X_7EIX_{10} X_{11}LPNLX_{16}X_{17}X_{18}QX_{20} X_{21}AFIX_{25}X_{26}LX_{28}X_{29}X_{30}$   
 $PX_{32}QSX_{35}X_{36}LLX_{39}E AKKLX_{45}X_{46}X_{47}Q;$

en donde cada uno de  $X_2, X_3, X_4, X_6, X_7, X_{10}, X_{11}, X_{17}, X_{18}, X_{20}, X_{21}, X_{25}$  y  $X_{28}$  corresponde independientemente a cualquier resto de aminoácido; y

en donde, independientemente entre ellos,

35  $X_{16}$  se selecciona entre N y T;

$X_{26}$  se selecciona entre K y S;

$X_{29}X_{30}PX_{32}$  se selecciona entre DDPS y RQPE;

$X_{35}$  se selecciona entre A y S;

$X_{36}$  se selecciona entre E y N;

40  $X_{39}$  se selecciona entre A, C y S;

$X_{45}$  se selecciona entre E, N y S;

$X_{46}$  se selecciona entre D, E y S;

$X_{47}$  se selecciona entre A y S; y

45 ii) una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 91% de identidad con la secuencia definida en i), siempre y cuando  $X_{46}$  no sea D cuando  $X_{45}$  es N.

En la secuencia i) anterior, cada uno de  $X_2, X_3, X_4, X_6, X_7, X_{10}, X_{11}, X_{17}, X_{18}, X_{20}, X_{21}, X_{25}$  y  $X_{28}$  corresponde individualmente a un resto de aminoácido que varía en la población. Por lo tanto, cada uno de dichos restos de aminoácidos puede ser cualquier resto de aminoácido independientemente de la identidad de cualquier otro resto indicado como  $X_y$  en la secuencia, como se explicó anteriormente en relación con el primer aspecto (polipéptido) de la descripción. Las opciones no limitantes para los restos de aminoácidos específicos  $X_y$  en la población de



polipéptidos, y para cualquier resto de aminoácidos adicionales en cualquiera de los extremos de la secuencia i) o ii), son las mismas que las listadas anteriormente como realizaciones del primer aspecto de la descripción.

Como se discutió anteriormente, los polipéptidos que comprenden cambios menores en comparación con las secuencias de aminoácidos anteriores sin afectar en gran medida a la estructura terciaria y su función, también están dentro del alcance de la presente descripción. Por lo tanto, la presente descripción también abarca una población de variantes de polipéptido basadas en un andamio común, en donde cada polipéptido de la población comprende una secuencia de aminoácidos con una identidad 91% o más con una secuencia como se define en i). En algunas realizaciones, cada polipéptido puede comprender una secuencia que es al menos el 93%, tal como al menos el 95%, tal como al menos el 97% idéntica a la secuencia definida en i).

La población definida en el presente texto consiste en un gran número de variantes únicas y diferentes de las moléculas de polipéptidos definidas. En este contexto, un gran número puede significar, por ejemplo, que la población comprende al menos  $1 \times 10^4$  moléculas polipeptídicas únicas, o al menos  $1 \times 10^6$ , al menos  $1 \times 10^8$ , al menos  $1 \times 10^{10}$ , al menos  $1 \times 10^{12}$ , o al menos  $1 \times 10^{14}$  moléculas polipeptídicas únicas. Como apreciará un experto en la técnica, es necesario utilizar un grupo que sea lo suficientemente grande como para proporcionar el tamaño de la población deseado. La "población" descrita en este documento también se puede indicar como "biblioteca".

Un profesional experto apreciará que la población como se describe en el presente documento puede ser útil como biblioteca para la selección de nuevas moléculas de unión basadas en el polipéptido definido en i). Es bien sabido en la técnica que las moléculas de unión pueden aislarse de una población (o biblioteca) de polipéptidos aleatorizados. Esta tecnología se describe en términos generales en la publicación PCT WO95/19374, en Nord et al (1997) Nature Biotechnology 15: 772-777 y en WO2009/080811, y se ha aplicado con éxito para seleccionar moléculas de unión basadas en un andamio de dominio Z común contra una variedad de moléculas diana a través de la variación aleatoria de trece posiciones diferentes de unión a dianas y la posterior selección de aglutinantes de interés en una presentación de fago u otro sistema de selección basado en el acoplamiento genotipo-fenotipo. La población como se describe en este documento es una población de variantes de polipéptidos que exhiben propiedades mejoradas, en particular en términos de estabilidad, en comparación con las poblaciones en la técnica anterior. Los ejemplos de variantes Z aisladas de una población (o biblioteca) de polipéptidos aleatorizados incluyen variantes Z con afinidad por el receptor de EGF (descrito en WO2007/065635), por el receptor de HER2 (descrito en WO2009/080810), por el receptor de HER3 (descrito en WO2010/056124), por el receptor de IGF1 (descrito en WO2009/019117), por el receptor  $\beta$  de PDGF (descrito en WO2009/077175), por ABD (descrito en WO2014/064237), por el receptor Fc neonatal (FcRn) (descrito en PCT/EP2014/055299) y para anhidrasa carbónica IX (descrito en WO2014/096163).

En un cuarto aspecto de la presente descripción, se proporciona una población de polinucleótidos. Cada polinucleótido de esta población codifica un miembro de una población de polipéptidos como se definió anteriormente en relación con el tercer aspecto.

En un quinto aspecto de la presente descripción, se proporciona una combinación de una población de polipéptidos según el tercer aspecto y una población de polinucleótidos de acuerdo con el cuarto, en la que cada miembro de la población de polipéptidos está asociado física o espacialmente con un polinucleótido correspondiente que codifica ese miembro a través de medios para el acoplamiento genotipo-fenotipo. Esta asociación física o espacial será más o menos estricta, dependiendo del sistema utilizado.

Los medios para el acoplamiento genotipo-fenotipo pueden comprender un sistema de presentación de fagos. Los sistemas de presentación de fagos son bien conocidos por los expertos y se describen, por ejemplo, en Smith GP (1985) Science 228: 1315-1317 y Barbas CF et al (1991) Proc Natl Acad Sci USA 88: 7978-7982.

Además, los medios para el acoplamiento genotipo-fenotipo pueden comprender un sistema de presentación de la superficie celular. El sistema de presentación de la superficie celular puede comprender células procariotas, tales como células gram-positivas, o células eucariotas, tales como células de levadura. Los sistemas de presentación de la superficie celular son bien conocidos por los expertos. Los sistemas procarióticos se describen, por ejemplo, en Francisco JA et al (1993) Proc Natl Acad Sci USA 90: 10444-10448 y Lee SY et al. (2003) Trends Biotechnol 21: 45-52. Los sistemas eucariotas se describen, por ejemplo, en Boder ET et al (1997) Nat Biotechnol 15: 553-557 y Gai SA et al. (2007) Curr Opin Struct Biol 17: 467-473. En una realización, dicho acoplamiento genotipo-fenotipo puede comprender un sistema de presentación de fagos.

Además, los medios para el acoplamiento genotipo-fenotipo pueden comprender un sistema de presentación libre de células. El sistema de presentación libre de células puede comprender un sistema de presentación de ribosomas, o un sistema de presentación de compartimentación *in vitro*, o un sistema de presentación *cis*, o un sistema de presentación de microesferas. Los sistemas de presentación de ribosomas son bien conocidos por los expertos, y se describen, por ejemplo, en Mattheakis LC et al (1994) Proc Natl Acad Sci USA 91: 9022-9026 y Zahnd C et al (2007) Nat Methods 4: 269-279. Los sistemas de compartimentación *in vitro* son bien conocidos por los expertos, y se describen, por ejemplo, en Sepp A et al (2002) FEBS Lett 532: 455-458. Los sistemas de presentación *Cis* son bien conocidos por los expertos, y se describen, por ejemplo, en Odegrip R et al (2004) Proc Natl Acad Sci USA 101: 2806-2810. Los sistemas de presentación de micropérlas son bien conocidos por los expertos, y se describen, por ejemplo, en Nord O et al (2003) J Biotechnol 106: 1-13.

Además, los medios para el acoplamiento genotipo-fenotipo pueden comprender un sistema sin presentación tal como el ensayo de complementación de fragmentos de proteínas (PCA). Los sistemas de PCA son bien conocidos por los expertos, y se describen, por ejemplo, en Koch H et al. (2006) J Mol Biol 357: 427-441.

5 En un sexto aspecto de la presente descripción, se proporciona un método para seleccionar un polipéptido deseado que tiene afinidad para una diana predeterminada de una población de polipéptidos, que comprende las etapas de:

(a) proporcionar una población de polipéptidos según el tercer aspecto;

(b) poner en contacto la población de polipéptidos con la diana predeterminada en condiciones que permitan una interacción específica entre la diana y al menos un polipéptido deseado que tenga afinidad por la diana; y

10 (c) seleccionar, sobre la base de dicha interacción específica, el al menos un polipéptido deseado del resto de la población de polipéptidos.

A continuación, este método se denomina "método de selección" de acuerdo con la descripción.

15 La etapa (a) puede comprender las etapas preparatorias de proporcionar una población de polinucleótidos y expresar dicha población de polinucleótidos para producir dicha población de polipéptidos. Los medios para producir una población de polipéptidos varían dependiendo del sistema de presentación utilizado y pueden encontrarse ejemplos de tales medios en las referencias de genotipo-fenotipo anteriores. Cada miembro de dicha población de polipéptidos utilizado en el método de selección puede asociarse físicamente con el polinucleótido que codifica ese miembro a través de medios para el acoplamiento genotipo-fenotipo. Los medios para el acoplamiento genotipo-fenotipo pueden ser uno de los descritos anteriormente.

20 La etapa (b) comprende las fases de poner la población de polipéptidos en contacto con la diana predeterminada en condiciones que permiten la interacción específica entre la diana y al menos un polipéptido deseado que tiene una afinidad por la diana. El margen de condiciones aplicables viene determinado por la robustez de la diana, la robustez del sistema de presentación y las propiedades deseadas de la interacción con la diana. Por ejemplo, puede desearse un método específico para separar la interacción, tal como la acidificación a un pH predeterminado. El experto en la técnica sabe qué experimentos se requieren para determinar las condiciones adecuadas.

25 La etapa (c) comprende la selección de al menos un polipéptido. Los medios para la selección del polipéptido deseado entre la población restante, en función de la interacción específica entre la diana predeterminada y al menos un polipéptido deseado que tiene afinidad por la diana, varían según el sistema de presentación utilizado y se pueden encontrar en las referencias de genotipo-fenotipo anteriores. Por ejemplo, los sistemas de selección de presentación *in vitro* están libres de células en contraste con sistemas como la presentación de fagos y el ensayo de compartimentación de fragmentos de proteínas.

30 En un séptimo aspecto de la presente descripción, se proporciona un método para aislar un polinucleótido que codifica un polipéptido deseado que tiene afinidad para una diana predeterminada, que comprende las etapas de:

- seleccionar dicho polipéptido deseado y el polinucleótido que lo codifica, entre una población de polipéptidos, usando el método de selección de acuerdo con el sexto aspecto; y

35 - aislar el polinucleótido así separado que codifica el polipéptido deseado.

A continuación, este método se denomina "método de aislamiento" de acuerdo con la descripción.

40 La separación del polinucleótido del polipéptido se puede hacer de manera diferente dependiendo del sistema de presentación utilizado para la selección. Por ejemplo, en los sistemas de presentación sin células, tales como la presentación *cis* y la presentación de ribosoma, el polinucleótido o el correspondiente mRNA se recupera mediante una elución eficiente del polipéptido utilizando los medios descritos en las referencias de genotipo-fenotipo anteriores.

45 El aislamiento del polinucleótido puede realizarse por diferentes métodos dependiendo del sistema de presentación utilizado para la selección. En la mayor parte de los sistemas de selección descritos anteriormente, por ejemplo el ensayo de complementación de fragmentos de proteínas, el polinucleótido puede aislarse directamente mediante amplificación por PCR específica utilizando los oligonucleótidos apropiados. Además, como en la presentación de ribosomas, el polinucleótido puede aislarse del mRNA correspondiente mediante transcripción inversa. Los diversos medios para el aislamiento del polinucleótido se pueden encontrar en las referencias genotipo-fenotipo anteriores.

En un octavo aspecto de la presente descripción, se proporciona un método para identificar un polipéptido deseado que tiene afinidad para una diana predeterminada, que comprende las etapas de:

50 - aislar un polinucleótido que codifica dicho polipéptido deseado usando el método de aislamiento de acuerdo con el séptimo aspecto; y

- secuenciar el polinucleótido para establecer por deducción la secuencia de aminoácidos de dicho polipéptido deseado.

La secuenciación del polinucleótido se puede realizar de acuerdo con procedimientos estándar bien conocidos por los expertos en la materia.

5 En un noveno aspecto de la presente descripción, se proporciona un método para seleccionar e identificar un polipéptido deseado que tiene una afinidad para una diana predeterminada de una población de polipéptidos, que comprende las etapas de:

(a) sintetizar cada miembro de una población de polipéptidos de acuerdo con el tercer aspecto en un soporte o esfera separados;

(b) seleccionar o enriquecer los portadores o esferas basándose en la interacción del polipéptido con la diana predeterminada; y

10 (c) identificar el polipéptido mediante la metodología de caracterización de proteínas.

En el paso (c), es posible, por ejemplo, utilizar el análisis espectrométrico de masas.

A continuación, este método se denomina "método de selección e identificación" de acuerdo con la descripción.

En un décimo aspecto de la presente descripción, se proporciona un método para la producción de un polipéptido deseado que tiene una afinidad para una diana predeterminada, que comprende las etapas:

15 - seleccionar e identificar un polipéptido deseado usando el método de selección de acuerdo con el sexto aspecto o el método de selección e identificación de acuerdo con el noveno aspecto; y

- producir dicho polipéptido deseado.

A continuación, este método se denomina "método de producción" de acuerdo con la descripción.

20 En el método de producción, la producción se puede llevar a cabo utilizando la expresión recombinante de un polinucleótido que codifica el polipéptido deseado. La producción también se puede llevar a cabo usando síntesis química del polipéptido *de novo* deseado.

En un undécimo aspecto de la presente descripción, se proporciona un método para la producción de un polipéptido deseado que tiene una afinidad para una diana predeterminada, que comprende las etapas:

25 (a1) aislar un polinucleótido que codifica dicho polipéptido deseado usando el método de aislamiento de acuerdo con el séptimo aspecto; o

(a2) retrotraducción de un polipéptido identificado utilizando el método de selección e identificación de acuerdo con el noveno aspecto; y

(b) expresar el polinucleótido así aislado para producir dicho polipéptido deseado,

en donde la etapa (b) se realiza después de la etapa (a1) o la etapa (a2).

30 Los polipéptidos, las poblaciones y los métodos de acuerdo con la descripción permiten la provisión de agentes con una afinidad para una diana predeterminada, a través de la provisión de un polipéptido que se caracteriza por la unión específica a la diana predeterminada.

También es posible proporcionar polipéptidos que se unen a una diana predeterminada que muestre poca o ninguna unión no específica.

35 También es posible proporcionar polipéptidos que se unen a una diana predeterminada que puede usarse fácilmente como un resto en un polipéptido de fusión.

También es posible proporcionar polipéptidos que se unen a una diana predeterminada que resuelvan uno o más de los problemas conocidos experimentados con los reactivos de anticuerpos existentes.

40 Además, es posible proporcionar polipéptidos que se unen a una diana predeterminada que se pueda usar en aplicaciones terapéuticas y/o diagnósticas.

También es posible proporcionar polipéptidos que se unen a una diana predeterminada que se preparan fácilmente mediante síntesis química de péptidos.

Además, la invención permite la identificación de polipéptidos que se unen a una diana predeterminada que muestran una estabilidad mejorada frente a agentes conocidos que se unen a la misma diana.

También es posible proporcionar polipéptidos que se unen a una diana predeterminada que exhibe una baja antigenicidad cuando se usan *in vivo* en un mamífero y/o que exhiben una biodistribución mejorada tras la administración a un mamífero.

5 Las modificaciones discutidas anteriormente para los polipéptidos que constituyen la población de acuerdo con la presente descripción también son aplicables a los polipéptidos obtenidos por cualquiera de los métodos mencionados anteriormente.

Los polipéptidos de acuerdo con la presente descripción pueden producirse por cualquier medio conocido, incluyendo síntesis o expresión química en diferentes huéspedes procariontes o eucariotas, incluyendo células bacterianas, células de levadura, células vegetales, células de insectos, plantas enteras y animales transgénicos.

10 Aunque los polipéptidos, las poblaciones de polipéptidos y los métodos de identificación, selección, aislamiento y producción descritos en el presente documento se han descrito con referencia a diversos aspectos y realizaciones ejemplares, los expertos en la técnica entenderán que pueden hacerse diversos cambios y pueden sustituirse por equivalentes los elementos de los mismos sin apartarse del alcance de la invención. Además, pueden hacerse muchas modificaciones para adaptar una situación o una molécula en particular a las enseñanzas de la invención sin apartarse del alcance esencial de la misma. Por tanto, se pretende que la descripción no quede limitada a ninguna realización particular contemplada, sino que incluya todas las realizaciones que estén dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas.

### Breve descripción de las figuras

20 La Figura 1 es un listado de las secuencias de aminoácidos de ejemplos de un polipéptido como se describe en el presente documento. Las secuencias de polipéptidos de variante Z de unión a C5 que en los Ejemplos 2-3 se muestra que tienen una estabilidad mejorada, se enumeran en la Figura 1 como SEC ID NO: 12, 17, 18 y 22, y las secuencias de las mismas que corresponden a la secuencia más corta definida en el presente texto se listan como SEC ID NO: 19-21. Las secuencias de aminoácidos de los polipéptidos de unión con C5 fusionados con los dominios de unión a la albúmina están en la Figura 1 con los identificadores de secuencia SEC ID NO: 4-11, 13-16 y 23-25. Las secuencias de polipéptidos de la variante Z con afinidad para HER2, PDGF-R $\beta$ , FcRn y CAIX que en el Ejemplo 12 se muestra que tienen estabilidad mejorada se listan como SEC ID NO: 28-29, SEC ID NO: 31-32, SEC ID NO: 34-35 y SEC ID NO: 37-42, respectivamente, junto con los correspondientes polipéptidos de control SEC ID NO: 27, 30, 33 y 36. Las secuencias de dichos polipéptidos de la variante Z con afinidad por HER2, PDGF-R $\beta$ , FcRn y CAIX correspondientes a la secuencia más corta definida en el presente texto se listan como SEC ID NO: 43-54. Además, las secuencias de aminoácidos de un polipéptido de unión a C5 control, el polipéptido de unión a C5 control fusionado a la albúmina, el dominio de unión a la albúmina y de C5 humano se listan como SEC ID NO: 26, 1, 2 y 3, respectivamente.

La Figura 2 es una imagen de un gel SDS-PAGE en el que el primer carril contiene el marcador de tamaño SeeBlue 2P y las bandas representan el polipéptido de unión con C5 PSI0242 (SEC ID NO: 1) (0) antes de la prueba de estabilidad; y (2w) después de una prueba de estabilidad de 2 semanas.

35 La Figura 3 es un cromatograma de HPLC de fase inversa de PSI0242 (SEC ID NO: 1) antes de la prueba de estabilidad (línea continua) y después de una prueba de estabilidad de 2 semanas (línea de puntos).

La Figura 4 es una imagen de un gel SDS-PAGE en el que el primer carril contiene marcador de tamaño SeeBlue 2P y las bandas representan (0) las muestras iniciales; y (2w) las muestras después de una prueba de estabilidad de 2 semanas. A: SEC ID NO: 1; B: SEC ID NO: 13; C: SEC ID NO: 14; D: SEC ID NO: 16.

40 La Figura 5 es un cromatograma de HPLC de fase inversa de un inhibidor de C5 modificado (SEC ID NO: 5) antes de la prueba de estabilidad (línea continua) y después de una prueba de estabilidad de 2 semanas (línea de puntos).

La Figura 6 es un cromatograma de HPLC de fase reversa de un inhibidor de C5 modificado (SEC ID NO: 16) antes de la prueba de estabilidad (línea continua) y después de una prueba de estabilidad de 2 semanas (línea de puntos).

45 La Figura 7 son espectros de CD recogidos para A: Z17351 (SEC ID NO: 37); B: Z17352 (SEC ID NO: 38); C: Z17355 (SEC ID NO: 39); D: Z17357 (SEC ID NO: 40); E: Z17359 (SEC ID NO: 41); F: Z17360 (SEC ID NO: 42); y G: Z09782 (SEC ID NO: 36).

50 La Figura 8 son imágenes de geles de SDS-PAGE que muestran polipéptidos originales y de la invención antes (0) y después (2w) de una prueba de estabilidad de 2 semanas. A: Polipéptidos dirigidos a HER2: carril 1: Mw, carril 2: Z02891 (0), carril 3: Z02891 (2w), carril 4: Mw, carril 5: Z17341 (0), carril 6: Z17341 (2w), carril 7: Z17342 (0), carril 8: Z17342 (2w); B: Polipéptidos dirigidos a PDGF- R $\beta$ : carril 1: Mw, carril 2: Z15805 (0), carril 3: Z15805 (2w), carril 4: Mw, carril 5: Z17343 (0), carril 6: Z17343 (2w), carril 7: Z17344 (0), carril 8: Z17344 (2w); C: Polipéptidos dirigidos a FcRn: carril 1: Z10103 (0), carril 2: Z10103 (2w), carril 3: Mw, carril 4: Z17347 (0), carril 5: Z17347 (2w), carril 6: Z17348 (0), carril 7: Z17348 (2w); y D: Polipéptidos dirigidos a CAIX: carril 1: Mw, carril 2: Z09782 (0), carril 3: Z09782 (2w), carril 4: Mw, carril 5: Z17351 (0), carril 6: Z17351 (2w), carril 7: Z17352 (0), carril 8: Z17352 (2w); carril 9: Z17355 (0), carril 10: Z17355 (2w), carril 11: Z17357 (0), carril 12: Z17357 (2w), carril 13: Z17359 (0), carril 14: Z17359 (2w), carril 15: Z17360 (0), carril 16: Z17360 (2w). El marcador de tamaño molecular (Mw) fue el estándar de proteínas pre-teñidas

con Novex® Sharp (216, 160, 110, 80, 60, 50, 40, 30, 20, 15, 10, 3,5 kDa). (Las bandas diagonales que se observan en la Figura 8C son un artificio que resulta de una impresión de un segundo gel teñido en el mismo contenedor).

La Figura 9 muestra sensogramas de unión de variantes Z que comprenden las sustituciones de aminoácidos ND a SE en la posición 52-53 (negro) y variantes Z originales (gris) con afinidad para la misma diana después de una prueba de estabilidad de 2 semanas. A: Unión de Z017341 (SEC ID NO: 28) y Z02891 (SEC ID NO: 27) a HER2; B: unión de Z017343 (SEC ID NO: 31) y Z15805 (SEC ID NO: 30) a PDGF-Rβ; C: Unión de Z017347 (SEC ID NO: 34) y Z10130 (SEC ID NO: 33) a FcRn y D: Unión de Z017351 (SEC ID NO: 37) y Z09782 (SEC ID NO: 36) a CAIX. Las concentraciones inyectadas de cada variante Z fueron las que se describen en el Ejemplo 13.

### Ejemplos

10 Los siguientes ejemplos describen nuevos polipéptidos de la variante Z que muestran una estabilidad mejorada. En este documento, las propiedades de los polipéptidos de la variante Z basadas en generaciones anteriores de andamiajes se compararon con los polipéptidos de la variante Z basados en el andamiaje descrito en el presente documento.

#### Ejemplo comparativo 1

15 Prueba de estabilidad de la variante Z de unión a C5 conocida

Una variante Z de unión a C5 designada como PSI0242 (SEC ID NO: 1) se formuló en NaP 25 mM/NaCl 125 mM pH 7,0 y se sometió a un estudio de estabilidad acelerada durante 2 semanas a 37 °C. La estabilidad se midió por la aparición de nuevas variantes después de las pruebas de estabilidad realizadas mediante SDS-PAGE y HPLC en fase inversa (RPC). En ambos análisis, la muestra inicial y la sometida al estudio de estabilidad se desarrollaron en paralelo. Para la SDS-PAGE, se cargaron 7,5 µg de proteína en cada pocillo. La RPC se desarrolló en un equipo HPLC Agilent 1100 utilizando una fase móvil A que consiste en 0,1% de ácido trifluoroacético (TFA) en agua, y una fase móvil B que consiste en 0,1% TFA/45% MeOH/45% isopropilamina (IPA)/10% agua.

25 Los resultados indican que se formaron nuevas formas de la proteína durante la incubación, visualizadas como bandas en SDS-PAGE (Fig. 2) y como nuevos picos en los cromatogramas de HPLC de fase inversa (RPC) (Fig. 3). En la Fig. 3, el pico principal después de la incubación durante 2 semanas corresponde al 57% de la muestra de proteína original.

Las posiciones 1-60 en SEC ID NO: 1 corresponden al polipéptido Z06175a, descrito previamente en el documento WO2013/126006 como SEC ID NO: 753.

#### Ejemplo 2

Prueba de estabilidad de polipéptidos y compuestos de unión a C5 modificados

30 Los polipéptidos y compuestos de unión a C5 modificados se sintetizaron y se purificaron esencialmente como se describe en el documento WO2013/126006.

Brevemente, el ADN que codifica las variantes Z de unión a C5 fue codón optimizado en *E. coli* y sintetizado por GeneArt, GmbH. Los genes sintéticos que representan las nuevas variantes Z de unión a C5 se subclonaron y se expresaron en *E. coli*.

35 Las variantes Z expresadas intracelularmente se purificaron usando métodos de cromatografía convencionales. La homogeneización y la clarificación se realizaron por sonicación seguida de centrifugación y filtración. La cromatografía de intercambio aniónico se utilizó como etapa de captura. Se obtuvo una purificación adicional mediante cromatografía de interacción hidrófoba. Las purificaciones se ejecutaron en condiciones ácidas (pH 5,5). El pulido y el cambio de tampón se realizaron por cromatografía de exclusión por tamaño.

40 Las proteínas purificadas se formularon en NaP 25 mM/NaCl 125 mM pH 7,0 y se sometieron a un estudio de estabilidad acelerado durante 2 semanas a 37 °C. La estabilidad se midió por la aparición de nuevas variantes después de la prueba de estabilidad mediante SDS-PAGE y HPLC en fase inversa (RPC). En ambos análisis, la muestra inicial y la sometida al estudio de estabilidad se realizaron en paralelo. Para la SDS-PAGE, se cargaron 7,5 µg de proteína en cada pocillo. Un ejemplo de un gel resultante se muestra en la Fig. 4.

45 La RPC se realizó en un equipo HPLC Agilent 1100 utilizando Mobile Phase A que consiste en 0,1% de ácido trifluoroacético (TFA) en agua, y una Mobile Phase B que consiste en 0,1% TFA/45% MeOH/45% isopropilamina (IPA)/10% agua. En la Fig. 5 se muestra un ejemplo de un cromatograma resultante para la SEC ID NO: 5.

Los resultados de las pruebas de estabilidad se resumen en la Tabla 1.

50 *Tabla 1. Estabilidad de polipéptidos de la variante Z después de 2 semanas de incubación a 37 °C. Se comparan los resultados de SDS-PAGE y HPLC.*

SEC ID NO:	Designación	Bandas SDS-PAGE	RPC Pre-picos	Pico medio (% de proteína total)	RPC Post-picos
1	PSI0242	2	2	57	1
4	PSI0332	2	1	57	1
5	PSI0334	1	1	73	0
6	PSI0335	2	2	57	1
7	PSI0336	2	2	57	1
8	PSI0337	2	2	57	1
9	PSI0339	2	2	57	1
10	PSI0340	2	2	67	1
11	PSI0369	2	1	90	1
12	PSI0377	1	0	77	0
13	PSI0378	1	0	89	0
14	PSI0379	1	0	88	0
15	PSI0381	1	0	87	0
16	PSI0383	1	0	91	0
22	PSI0400	1	0	91	0
23	PSI0410	1	1	72	1
24	PSI0403	1	1	77	1
25	PSI0404	1	1	88	0

A partir de la Tabla 1 se puede concluir que ciertos polipéptidos o compuestos de unión con C5 modificados tienen propiedades mejoradas, tales como un aumento de la estabilidad, en comparación con PSI0242. Dichos polipéptidos o compuestos de unión con C5 mejorados incluyen PSI0334 (SEC ID NO: 5), PSI0340 (SEC ID NO: 10), PSI0369 (SEC ID NO: 11), PSI0377 (SEC ID NO: 12), PSI0378 (SEC ID NO: 13), PSI0379 (SEC ID NO: 14), PSI0381 (SEC ID NO: 15), PSI0383 (SEC ID NO: 16), PSI0400 (SEC ID NO: 22), PSI0410 (SEC ID NO: 23), PSI0403 (SEC ID NO: 24) y PSI0404 (SEC ID NO: 25). Seis de las variantes mencionadas (SEC ID NO: 5, 12, 13, 14, 16 y 22) tienen en común que los restos de aminoácidos en las posiciones 52-53 se han sustituido de ND (cf. PSI0242) a SE. En la SEC ID NO: 15, la sustitución correspondiente es de ND a ES. En la SEC ID NO: 24, solo el resto de aminoácido en la posición 53 ha sido sustituido de D a E, mientras que en la SEC ID NO: 25, el resto de aminoácido en la posición 52 ha sido sustituido de N a S.

### Ejemplo 3

#### Unión de compuestos modificados a C5 humana

La albúmina sérica humana se inmovilizó a Amina Reactiva de 2ª generación (AR2G) Dip and Read Biosensors (Pall Life Sciences (ForteBio) NO de cat. 18-5092) mediante acoplamiento de amina. PSI0242 (SEC ID NO: 1; 1 µM) y compuestos de unión a C5 modificados (1 µM) en tampón de lectura (tampón HBS-EP [HEPES 10 mM, pH 7,4, NaCl 150 mM, EDTA 3 mM, 0,005% de Surfactante P20], GE Healthcare, n° cat. BR100188) se cargaron, cada uno en un sensor separado con HSA, durante 120 segundos, seguido de un registro de línea de base durante 60 segundos en tampón de lectura antes de ser sometido a C5 humana (Quidel, n° de cat. A403) a concentraciones que oscilan entre 0,79 nM y 25 nM en tampón de lectura con un ciclo de regeneración y un registro de línea de base entre cada concentración. Las condiciones de regeneración para los sensores fueron glicina 10 mM, pH 2 (tres pulsos con 30 segundos y tampón de funcionamiento durante 60 segundos). Cada espectrograma se restó de la referencia frente al de una construcción análoga que contenía un dominio de unión a albúmina (SEC ID NO: 2) pero sin la capacidad de unión de C5. Los datos se analizaron de acuerdo con el modelo de Langmuir 1:1 utilizando ForteBio Analysis 7.1 (software de cinética Pall Life sciences (ForteBio)).

La  $K_D$  relativa de la interacción de PSI0242 (SEC ID NO: 1) con C5 se muestra en la Tabla 2. La  $K_D$  de PSI0242 (SEC ID NO: 1) varió de 1-3 nM en diferentes realizaciones.

5 Los resultados en la Tabla 2 indican que los compuestos de unión de C5 de acuerdo con la presente descripción tienen una capacidad de unión a C5 humano que es similar a la del polipéptido PSI0242 (SEC ID NO: 1) descrito en el documento WO2013/126006.

*Tabla 2. Valor de  $K_D$  de la interacción de SEC ID NO: 5, 13, 15 y 16 con C5 en comparación con el valor de  $K_D$  de la interacción de C5 con SEC ID NO: 1.*

SEC ID NO:	Designación	$K_D$ Rel.
1	PSI0242	1,0
5	PSI0334	1,1
13	PSI0378	1,3
15	PSI0381	23
16	PSI0383	2,1

#### Ejemplo 4

10 Estabilidad del polipéptido de unión a C5 sintetizado químicamente.

Se solicitó de BACHEM AG un PSI0400 (SEC ID NO: 22) sintetizado químicamente. La estabilidad del polipéptido se ensayó de acuerdo con la misma metodología que en el Ejemplo 2. Los resultados de la prueba de estabilidad se muestran en la Tabla 3.

15 *Tabla 3. Estabilidad del polipéptido de unión a C5 producido químicamente PSI0400 (SEC ID NO: 22) después de 2 semanas de incubación.*

SEC ID NO	Designación	Bandas SDS-PAGE	Pre-picos RPC	Pico principal (% de proteína total)	Post-picos RPC
22	PSI0400	1	0	91	0

La estabilidad de PSI0400 fue comparable a la del mismo polipéptido producido en *E. coli* en el Ejemplo 2.

20 La integridad del pliegue de PSI0400 (SEC ID NO: 22) se comparó con un polipéptido de unión con C5 recombinante (PSI0257, SEC ID NO: 26), producido de acuerdo con los métodos del Ejemplo 2, utilizando espectros de dicroísmo circular (CD) del UV lejano.

25 Los espectros de CD se registraron mediante un espectropolarímetro CD J-720 (Jasco, Japón). Las muestras se diluyeron a 0,17 mg/ml de concentración de proteína 10 usando tampón Pi (Na-K-PO<sub>4</sub> 5 mM, pH 7,0). En primer lugar se registró un espectro de CD del tampón Pi, luego se registraron los espectros para cada una de las muestras y, finalmente, para el tampón Pi de nuevo. Cuando los dos espectros de tampón coinciden, el espectro registrado en primer lugar se usó como espectro del tampón. El espectro del tampón se suavizó utilizando el procedimiento de Savitzky-Golay con un ancho de convolución de 25. Los otros espectros se suavizaron según el mismo procedimiento con un ancho de convolución de 15. El espectro del tampón suavizado se restó de cada uno de los otros espectros suavizados. El programa CDNN se utilizó para estimar el contenido secundario de las proteínas, y las estimaciones resultantes se presentan en la Tabla 4. Los resultados mostraron que ni las dos sustituciones de aminoácidos en las posiciones 52 y 53 ni la producción de polipéptidos por síntesis química influyen en el contenido de la estructura secundaria del polipéptido sintetizado químicamente. La integridad del contenido de la estructura secundaria se comparó con el PSI0257 producido de forma recombinante (SEC ID NO: 26).

30

Tabla 4. Comparación del contenido de estructura secundaria para dos polipéptidos de unión a C5 según se determina por CD.

	SEC ID NO: 26	SEC ID NO: 22
Hélice	63%	69 %
Antiparalelo	3 %	2 %
Paralelo	3 %	3 %
Giro-beta	13 %	12 %
Bobina Rndm.	13 %	11 %

#### Ejemplo 5

##### 5 Unión de variantes Z modificadas y polipéptidos a C5 humano.

La afinidad de unión de los compuestos de unión a C5 PSI0242 (SEC ID NO: 1), PSI0340 (SEC ID NO: 10), PSI0378 (SEC ID NO: 13) y PSI0410 (SEC ID NO: 23) y el polipéptido de unión a C5 PSI0400 (SEC ID NO: 22) para C5 humano se analizó utilizando un instrumento Biacore T200 (GE Healthcare). Se acopló C5 humano (Quidel, nº de cat. A403) a un chip sensor CM5 (900 RU) utilizando la química de acoplamiento de aminas según el protocolo del fabricante. El acoplamiento se realizó inyectando hC5 a una concentración de 7,5 µg/ml en tampón de acetato sódico 10 mM pH 5 (GE Healthcare). La célula de referencia se trató con los mismos reactivos pero sin inyectar C5 humano. La unión del polipéptido C5 y compuestos a hC5 inmovilizado se estudió con el método de cinética de ciclo único, en el que cinco concentraciones de muestra, típicamente 25, 12,5, 6,25, 3,12 y 1,56 nM, fueron inyectadas en tampón HBS-EP una tras otra a un caudal de 30 µl/min a 25 °C en el mismo ciclo sin regeneración entre inyecciones. Los datos de la celda de referencia se restaron para compensar los cambios en el índice de refracción global. En la mayoría de los casos, se incluyó también una inyección de HBS-EP como control, de modo que los sensogramas se duplicaron. Las superficies se regeneraron en tampón HBS-EP. Las constantes cinéticas se calcularon a partir de los sensogramas utilizando el modelo de analito de Langmuir 1:1 del Biacore T200 Evaluation Software, versión 1.0. Los valores  $K_D$  resultantes de las interacciones se presentan en la Tabla 5.

20 *Tabla 5. Valor de  $K_D$  de la interacción de SEC ID NO: 10, 13, 22 y 23 con C5 en comparación con el valor de  $K_D$  de la interacción de C5 con SEC ID NO: 1.*

SEC ID NO:	Designación	$K_D$ Rel.
1	PSI0242	1,0
10	PSI0340	1,1
13	PSI0378	1,3
22	PSI0400	0,53
23	PSI0410	1,3

Los presentes datos muestran que las sustituciones de aminoácidos que mejoran la estabilidad no tienen ningún efecto negativo significativo sobre la capacidad de las moléculas para unirse a C5, y que por tanto no influyen en sus actividades biológicas.

#### Ejemplo 6

##### Inhibición de la hemólisis

Para estudios de la función de la ruta del complemento clásica y la inhibición de la misma por los compuestos de unión con C5 PSI0378 (SEC ID NO: 13) y PSI0410 (SEC ID NO: 23), y el polipéptido de unión con C5 PSI0400 (SEC ID NO: 22), se prepararon eritrocitos de oveja a partir de sangre de oveja fresca entera en una solución de Alsever (Swedish National Veterinary Institute). Los eritrocitos se trataron después con antisuero anti-eritrocitos de oveja, de conejo (Sigma) para que se convirtieran en eritrocitos de oveja (EA) sensibilizados con anticuerpos. El proceso entero se realizó en condiciones asépticas. Todos los demás reactivos fueron de fuentes comerciales.



El ensayo *in vitro* se realizó en una placa de microtitulación en forma de U de 96 pocillos mediante adiciones consecutivas de una proteína de prueba, un suero de complemento y suspensión EA. Las concentraciones finales de todos los reactivos, en un volumen de reacción total de 50 µl por pocillo y a pH 7,3-7,4, fueron: CaCl<sub>2</sub> 0,15 mM; MgCl<sub>2</sub> 0,5 mM; NaN<sub>3</sub> 3 mM; NaCl 138 mM; 0,1% gelatina; barbital sódico 1,8 mM; ácido barbitúrico 3,1 mM; 5 millones de EA; suero C5 de proteína de complemento a una dilución adecuada, y el compuesto de unión a C5 o el polipéptido a las concentraciones deseadas.

Los compuestos de unión a C5 y el polipéptido se pre-incubaron con el suero del complemento descrito anteriormente durante 20 minutos en hielo antes de comenzar la reacción mediante la adición de una suspensión de EA. La reacción hemolítica se dejó proceder a 37 °C en condiciones de agitación durante 45 minutos y luego se terminó opcionalmente mediante la adición de 100 µl de solución salina enfriada con hielo que contenía 0,02% de Tween 20. Las células se centrifugaron hasta el fondo del vial y la porción superior, correspondiente a 100 µl de sobrenadante, se transfirió a una microplaca transparente que tiene pocillos de área mitad y fondo plano. Los resultados de la reacción se analizaron como densidad óptica utilizando un lector de placas de microtítulo a una longitud de onda de 415 nm.

Se incluyeron una muestra de control (PSI0242, SEC ID NO: 1) y un vehículo en cada placa para definir los valores de las reacciones no inhibidas y totalmente inhibidas, respectivamente. Estos valores se utilizaron para calcular el % de inhibición de la hemólisis del complemento en cualquier concentración de la muestra dada. Las potencias inhibitorias (valores de IC50) de los compuestos de unión con C5 y el polipéptido ensayados se definieron aplicando el mismo ensayo en presencia de una concentración controlada de C5 humano añadido a suero agotado en C5. Para inhibidores muy potentes (nanomolar bajo a sub-nanomolar), una concentración final de C5 de la mezcla de reacción se controló a 0.1 nM, que se estableció opcionalmente utilizando sueros agotados o deficientes de C5. Los resultados se presentan a continuación en la Tabla 6.

Tabla 6. La capacidad inhibidora de los compuestos y polipéptido de unión a C5.

SEC ID NO:	Designación	Potencia (%)	IC 50 (nM)
1	PSI0242	100	0,47
13	PSI0378	83	0,58
22	PSI0400	-	4
23	PSI0410	107	0,49

Los resultados del ensayo de hemólisis indican que los compuestos de unión con C5 mejorados PSI0378 (SEC ID NO: 13) y PSI0410 (SEC ID NO: 23) no difieren significativamente del compuesto de referencia PSI0242 (SEC ID NO: 1) en términos de función. El polipéptido de unión con C5 PSI0400 (SEC ID NO: 22) es funcional en el ensayo y como no comprende un dominio de unión a la albúmina, los resultados no pueden compararse directamente con los del compuesto de referencia.

#### Ejemplo 7

##### Unión a albúmina humana

Para la evaluación de la afinidad de los compuestos de unión con C5 por la albúmina, se utilizó un ELISA de albúmina humana, que utiliza albúmina humana recombinante como recubrimiento (Novozymes) y anticuerpos disponibles comercialmente de Affibody AB (primario) y DakoCytomation (detección). Se empleó un método estándar preparado a partir de PSI0242 (SEC ID NO: 1) y que comprende un polipéptido de unión a C5 y un dominio de unión a albúmina de proteína G estreptocócica, para la cuantificación de muestras.

Se recubrió una microplaca de 96 pocillos con albúmina humana recombinante. La placa se lavó después con solución salina tamponada con fosfato que contenía 0,05 % de Tween 20 (PBST) y se bloqueó durante 1-2 horas con 1% de caseína en PBS. Después de un lavado de la placa, el estándar, los controles del método, la muestra de control y las muestras de prueba se añaden a la placa. Después de la incubación durante 2 horas, el material no unido se eliminó mediante un lavado. Una IgG anti-Affibody® de cabra (Affibody AB, nº cat. 20.1000.01.0005) se añadió a los pocillos y la placa se incubó durante 1,5 horas para permitir la unión a los compuestos de unión a C5 unidos. Después de un lavado, se permitió que la HRP IgG anti-cabra de conejo (DakoCytomation) se uniera a los anticuerpos de cabra durante 1 h. Después de un lavado final, la cantidad de HRP unida se detectó mediante la adición de un sustrato TMB (3,3',5,5'-tetrametilbenzidina), que se convirtió en un producto azul por la enzima. La adición de ácido clorhídrico 1 M después de 30 minutos detuvo la reacción y el color del contenido de los pocillos viró de azul a amarillo. La absorbancia a 450 nm se midió fotométricamente, utilizando la absorbancia a 650 nm como una longitud de onda de referencia. La intensidad del color fue proporcional a la cantidad de PSI0242 (SEC ID NO: 1) y las concentraciones de la muestra se determinaron a partir de la curva patrón.

Los compuestos de unión de C5 que comprenden un derivado del dominio de unión a la albúmina de la proteína G estreptocócica (ABD) mostraron ser capaces de unirse a la albúmina humana. Los datos se presentan en la Tabla 7.

Tabla 7. Resumen de los resultados de ELISA

SEC ID NO:	Designación	% del contenido total de proteínas
1	PSI0242	103
13	PSI0378	85
23	PSI0410	150

- 5 La interpretación del ensayo es que ambos polipéptidos de unión con C5 investigados con estabilidad mejorada mantienen su capacidad para unirse a la albúmina sérica humana.

Ejemplo 8

Prueba de estabilidad de tres meses de variantes Z de unión con C5 y polipéptidos

- 10 Las variantes de unión con C5 y polipéptidos que mostraron una estabilidad mejorada en comparación con PSI0242 en la prueba de estabilidad de 2 semanas a 37 °C (Ejemplo 2) se sometieron a una prueba de estabilidad más larga, de 3 meses a 37 °C. La configuración de la prueba de estabilidad y el análisis por RPC fue como se describe en el Ejemplo 2. La evaluación de la estabilidad se realizó midiendo el pico principal del cromatograma y calculando el porcentaje correspondiente del contenido total de proteínas. Los datos del Ejemplo 2 se incluyen en la Tabla 8 a continuación, para facilitar la interpretación.

- 15 *Tabla 8. Estabilidad de los polipéptidos y compuestos de unión a C5 después de 3 meses de incubación a 37 °C.*

SEC ID NO:	Designación	2 semanas, 37 °C Pico principal (% de proteína total)	3 meses, 37 °C Pico principal (% de proteína total)
5	PSI0334	73	16
13	PSI0378	89	59
14	PSI0379	88	58
15	PSI0381	87	46
16	PSI0383	91	59
23	PSI0410	72	16
24	PSI0403	77	35
25	PSI0404	88	46

- 20 Compuestos de unión con C5 que comprenden las sustituciones de aminoácidos ND a SE en las posiciones 52-53 (SEC ID NO: 13, 14 y 16) en comparación con PSI0242 mostraron una proporción de proteína en la forma original después de 3 meses a 37 °C mayor que PSI0242 (SEC ID NO: 1), después de 2 semanas en las mismas condiciones (véase la Tabla 1). Los otros compuestos probados también muestran una estabilidad aumentada en comparación con el PSI0242.

Ejemplo 9

Generación, estudio de estabilidad y evaluación de la unión de polipéptidos con andamiajes modificados con especificidad para diferentes dianas

- 25 *Generación de polipéptidos con andamio modificado con especificidad para diferentes dianas:* Variantes de polipéptidos que comprenden el nuevo andamiaje descrito en este documento se generan tomando polipéptidos de la variante Z con especificidad para diferentes dianas, y realizando mutagénesis dirigida al sitio en posiciones seleccionadas dentro del andamiaje. Alternativamente, las nuevas moléculas pueden producirse por síntesis química de la molécula entera o usando otros métodos de biología molecular conocidos por los expertos en la técnica, para  
30 injertar un motivo de unión de un polipéptido variante Z en el nuevo andamiaje.

*Estudio comparativo de estabilidad de polipéptidos con andamios modificados con especificidad para diferentes dianas:* para cada nuevo polipéptido creado como se describe anteriormente, la estabilidad se compara con la estabilidad del polipéptido original u otro polipéptido comparable. Los polipéptidos se someten a diferentes condiciones, como la formulación en [NaP 25 mM, NaCl 125 mM, pH 7,0] e incubación a 37 °C durante 2 semanas como se describe en el Ejemplo 2 y/o durante 3 meses como se describe en el Ejemplo 8. La estabilidad se evalúa analizando la aparición de nuevas variantes realizando análisis de SDS-PAGE y RPC como se describe en el Ejemplo 2.

Se espera que los polipéptidos con las modificaciones introducidas en las posiciones de los andamiajes muestren una estabilidad mejorada similar a los resultados presentados en el Ejemplo 2 y el Ejemplo 12.

*Evaluación de la unión de los polipéptidos modificados con andamios:* Los polipéptidos que han mostrado propiedades de estabilidad mejoradas se evalúan en términos de capacidades conservadas de unión a su diana después de la introducción de alteraciones en el andamio. Los estudios de unión se realizan en un instrumento biosensor, o cualquier otro instrumento conocido por el experto en la materia y que mide la interacción entre dos o más moléculas. Por ejemplo, la molécula diana, o un fragmento de la misma, se inmoviliza en un chip sensor del instrumento, y la muestra que contiene el polipéptido a analizar se pasa sobre el chip. Alternativamente, el polipéptido a ensayar se inmoviliza en un chip sensor del instrumento, y una muestra que contiene la diana predeterminada, o un fragmento de la misma, se pasa sobre el chip. La afinidad de unión se puede probar en un experimento en el que se capturan muestras del polipéptido en placas ELISA recubiertas con anticuerpo y se agrega un blanco biotinilado predeterminado, o un fragmento del mismo, seguido de HRP conjugada con estreptavidina. Se agrega el sustrato TMB y se mide la absorbancia a 450 nm utilizando un lector de placas de múltiples pocillos, como Victor<sup>3</sup> (Perkin Elmer). Si se desea una medida cuantitativa, por ejemplo, para determinar el valor de EC50 (la mitad de la concentración efectiva máxima) para la interacción, también se puede usar ELISA. La respuesta del polipéptido frente a una serie de dilución de la diana predeterminada, o un fragmento de la misma, se mide utilizando ELISA como se describe anteriormente. Los resultados obtenidos por tales experimentos y los valores de EC50 pueden calcularse a partir de los resultados utilizando, por ejemplo, GraphPad Prism 5 y regresión no lineal. Si el polipéptido contiene un dominio de unión a albúmina, el efecto sobre la unión a albúmina se evaluará de la misma manera, como se describe en el Ejemplo 3 o como se describe en el Ejemplo 7.

Los polipéptidos que tienen las mutaciones de andamio descritas en el presente documento y, además, capacidades de unión similares o mejoradas para su objetivo, se consideran mejores candidatos para un mayor desarrollo, por ejemplo, en productos biofarmacéuticos.

#### Ejemplo 10

Generación de polipéptidos con andamiaje modificado con especificidad para cuatro dianas diferentes

Se generaron variantes de polipéptidos que comprenden el nuevo andamiaje descrito en el presente documento tomando polipéptidos de la variante Z con especificidad para diferentes dianas, y realizando mutagénesis dirigida al sitio en posiciones seleccionadas dentro del andamiaje. Las sustituciones de aminoácidos en las posiciones de los andamios en las variantes polipeptídicas Z02891 (SEC ID NO: 27), que dirigen al receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano (HER2); Z15805 (SEC ID NO: 30), que dirigen al receptor beta del factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF-R $\beta$ ); Z10103 (SEC ID NO: 33), que dirigen al receptor de Fc neonatal (FcRn); y Z09782 (SEC ID NO: 36), que dirigen a la anhidrasa carbónica IX (CAIX), se especifican en la Tabla 9.

*Tabla 9. Polipéptidos originales y de la invención producidos y analizados en términos de estabilidad y función en los Ejemplos descritos a continuación.*

SEC ID NO:	Designación	Diana	Sustituciones de aminoácidos	Original frente a invención
27	Z02891	HER2	-	original
28	Z17341	HER2	N52S, D53E	invención
29	Z17342	HER2	D36R, D37Q, S39E, N52S, D53E	invención
30	Z15805	PDGF-R $\beta$	-	original
31	Z17343	PDGF-R $\beta$	N52S, D53E	invención
32	Z17344	PDGF-R $\beta$	D36R, D37Q, S39E, N52S, D53E	invención
33	Z10103	FcRn	-	original
34	Z17347	FcRn	N52S, D53E	invención
35	Z17348	FcRn	D36R, D37Q, S39E, N52S, D53E	invención

36	Z09782	CAIX	-	original
37	Z17351	CAIX	N52S, D53E	invención
38	Z17352	CAIX	D36R, D37Q, S39E, N52S, D53E	invención
39	Z17355	CAIX	D53E	invención
40	Z17357	CAIX	D36R, D37Q, S39E, D53E	invención
41	Z17359	CAIX	N52S	invención
42	Z17360	CAIX	D36R, D37Q, S39E, N52S	invención

5 Todas las variantes se clonaron con una etiqueta de histidina 6 x N-terminal (His<sub>6</sub>) y se obtuvieron constructos de polipéptidos codificados en el formato MGSSHHHHHLQ- [Z#####]. Se introdujeron mutaciones en los plásmidos de los polipéptidos de la invención utilizando pares de cebadores de oligonucleótidos solapados que codifican las sustituciones de aminoácidos deseadas y aplicando técnicas de biología molecular establecidas. Las secuencias plasmídicas correctas fueron verificadas por secuenciación de DNA.

10 Se transformaron células *E. coli* (cepa T7E2) (GeneBridge) con plásmidos que contenían los fragmentos génicos que codifican los polipéptidos originales y de la invención. Las células se cultivaron a 37 °C en medio TSB-YE suplementado con 50 µg/ml de kanamicina y a continuación se indujo la expresión de proteínas mediante la adición de IPTG. Las células peletizadas se rompieron utilizando un homogeneizador FastPrep® -24 (Nordic Biolabs) y los residuos celulares se eliminaron mediante centrifugación. Cada sobrenadante que contenía la variante Z como una proteína marcada como His<sub>6</sub> se purificó por cromatografía de afinidad de iones metálicos inmovilizados (IMAC) utilizando columnas His GraviTrap™ (GE Healthcare) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Las variantes Z purificadas cambiaron de tampón a solución salina tamponada con fosfato (PBS; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1,47 mM, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 8,1 mM, NaCl 137 mM, KCl 2,68 mM, pH 7,4) utilizando columnas de desalinización PD-10 (GE Healthcare). La identidad correcta de cada polipéptido se comprobó mediante SDS-PAGE y HPLC-MS.

#### Ejemplo 11

Análisis de espectroscopía de dicroísmo circular de polipéptidos de andamiaje modificado

20 Se realizó un análisis de dicroísmo circular (CD) para determinar las temperaturas de fusión (T<sub>m</sub>) y evaluar los cambios potenciales en la estructura secundaria de los polipéptidos de la invención como resultado de las sustituciones de aminoácidos.

25 Variantes Z purificadas etiquetadas con His<sub>6</sub> se diluyeron a 0,5 mg/ml en PBS. Para cada variante Z diluida, se registró un espectro de CD a 250-195 nm a 20 °C. Se realizó una medición de temperatura variable (VTM) para determinar la T<sub>m</sub>. En la VTM, la absorbancia se midió a 221 nm mientras que la temperatura se elevó de 20 a 90 °C, con una pendiente de temperatura de 5 °C/min. Después de la VTM, se registró un segundo espectro de CD a 250-195 nm a 20 °C. Las mediciones de CD se realizaron en un espectropolarímetro Jasco J-810 (Jasco Scandinavia AB) usando una celda con una longitud de trayectoria óptica de 1 mm.

30 La T<sub>m</sub> de cada polipéptido correspondiente, determinada a partir del punto medio de la transición en el gráfico de la señal de CD frente a la temperatura, se muestra en la Tabla 10. Todos los polipéptidos mutados mostraron una estructura de hélice alfa conservada y se replegaron de manera reversible o casi reversible incluso después de calentar a 90 °C. Un conjunto seleccionado de espectros de CD se muestra en la Fig. 7.

Tabla 10. Temperaturas de fusión para variantes Z originales y de la invención determinadas por CD.

SEC ID NO:	Designación	Diana	T <sub>m</sub> (°C)	Original frente a invención
27	Z02891	HER2	70	original
28	Z17341	HER2	66	invención
29	Z17342	HER2	62	invención
30	Z15805	PDGF-Rβ	48	original
31	Z17343	PDGF-Rβ	46	invención
32	Z17344	PDGF-Rβ	42	invención

33	Z10103	FcRn	48	original
34	Z17347	FcRn	50	invención
35	Z17348	FcRn	44	invención
36	Z09782	CAIX	43	original
37	Z17351	CAIX	40	invención
38	Z17352	CAIX	45	invención
39	Z17355	CAIX	43	invención
40	Z17357	CAIX	47	invención
41	Z17359	CAIX	41	invención
42	Z17360	CAIX	46	invención

## Ejemplo 12

Estudio comparativo de estabilidad de polipéptidos con andamiajes modificados con especificidad para cuatro dianas diferentes

- 5 Para cada nuevo polipéptido creado como se describe en el Ejemplo 10, la estabilidad se comparó con la estabilidad del polipéptido original. Los polipéptidos, formulados en PBS a pH 7,4, se diluyeron a 1 mg/ml y se incubaron 200  $\mu$ l de alícuotas a 37°C durante 2 semanas. Las muestras recolectadas antes y después de la prueba de estabilidad se analizaron mediante SDS-PAGE usando geles Bis-Tris NuPAGE al 10% (Invitrogen) y cargando 5  $\mu$ g de proteína en cada pocillo. Los geles teñidos con azul de Coomassie resultantes se muestran en la Fig. 8. La estabilidad se evaluó mediante la aparición de nuevas variantes después de la incubación a la temperatura elevada y las variantes mutadas se compararon con el polipéptido original correspondiente.

15 Todos los polipéptidos con modificaciones introducidas en posiciones de andamiaje como se describe en la Tabla 9 mostraron una estabilidad mejorada en comparación con el polipéptido original correspondiente. En muestras de los polipéptidos originales, era visible en el gel una segunda banda justo por encima de la banda principal. Una segunda banda correspondiente no fue visible en las muestras de los polipéptidos de la invención con la sustitución D53E y/o N52S. Esto es en analogía con los resultados presentados en los Ejemplos 2 y 4. Así pues, el efecto estabilizante observado para las mutaciones de andamiaje de la invención parece ser un efecto general, al margen de la especificidad de la diana de la variante Z o polipéptido que comprende dicha variante Z. Los polipéptidos con las sustituciones D53E y/o N52S, solos o combinados con las sustituciones D36R, D37Q y S39E, mostraron perfiles similares en el gel SDS-PAGE. La sustitución D53E sola o en combinación con las sustituciones D36R, D37Q y S39E pareció reducir la cantidad de la especie con una confirmación alternativa observada como una segunda banda en el gel SDS-PAGE, pero no pudo evitar completamente la formación de esta especie.

## Ejemplo 13

Evaluación de la unión de polipéptidos con andamiaje modificado

- 25 Un conjunto de polipéptidos que muestran propiedades de estabilidad mejoradas en el Ejemplo 12 se siguieron evaluando en términos de capacidades de unión a sus dianas conservadas después de la introducción de alteraciones en el andamio, así como después de haber sido sometidos a la prueba de estabilidad, es decir, incubada a 37 °C durante 2 semanas.

30 Las constantes cinéticas comparativas ( $k_{on}$  y  $k_{off}$ ) y las afinidades ( $K_D$ ) se determinaron utilizando un instrumento Biacore 2000. Las proteínas diana HER2-Fc humana (R&D Systems, n° de cat. 1129-ER-050), PDGF-R $\beta$  humana (R&D Systems, cat. no. 385-PR-100/CF), FcRn humana (Biorbyt, n° de catálogo orb 84388) y CAIX humana (R&D Systems, n° de catálogo 2188-CA), respectivamente, se inmovilizaron en la superficie de la capa de dextrano carboxilado de chips CM5 (GE Healthcare). La inmovilización se realizó utilizando la química de acoplamiento de aminas según el protocolo del fabricante y utilizando HBS-EP como tampón de desarrollo. Se activó y desactivó una superficie de celda de flujo en el chip para usar como blanco durante las inyecciones de analito. El nivel de inmovilización de la proteína diana en la superficie correspondiente fue de aproximadamente 850 RU para HER2, 2200 RU para PDGF-R $\beta$ , 750 para FcRn y 580 RU para CAIX.

40 Se usó HBS-EP (HER2, PDGF-R $\beta$ , CAIX) o un tampón de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  /ácido cítrico pH 6,0 /( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  126 mM, ácido cítrico 37 mM) (FcRn) como tampón de desarrollo, y el caudal fue de 30  $\mu$ l/min en los experimentos de unión realizados a 25 °C, como se describe a continuación.

5 Las variantes Z Z02891 (SEC ID NO: 27), Z17341 (SEC ID NO: 28) y Z17342 (SEC ID NO: 29) que se dirigen a HER2 se diluyeron en tampón de desarrollo hasta concentraciones finales de 3,33, 10, 30 y 90 nM y se inyectaron durante 5 minutos, seguido de 30 minutos de disociación en el tampón de desarrollo. La regeneración mediante cuatro impulsos alternativos entre HCl 10 mM y NaOH 10 mM, seguida de un equilibrio de 5 min en tampón de desarrollo se aplicó después de cada inyección de analito.

10 Las variantes Z, Z15805 (SEC ID NO: 30), Z17343 (SEC ID NO: 31) y Z17344 (SEC ID NO: 32) que se dirigen al PDGF-R $\beta$  se diluyeron en tampón de desarrollo hasta concentraciones finales de 6,67, 20, 60 y 180 nM y se inyectaron durante 5 minutos, seguido de 20 minutos de disociación en el tampón de desarrollo. Se aplicó la regeneración mediante tres pulsos de NaOH 10 mM seguido de un equilibrio de 5 minutos en el tampón de desarrollo después de cada inyección de analito.

15 Las variantes Z, Z10103 (SEC ID NO: 33), Z17347 (SEC ID NO: 34) y Z17348 (SEC ID NO: 35) que se dirigen a FcRn se diluyeron en tampón de desarrollo hasta concentraciones finales de 3,33, 10 y 30 nM y se inyectaron durante 3 minutos, seguido de 15 minutos de disociación en tampón de desarrollo. Después de cada inyección de analito, se aplicó la regeneración mediante tres pulsos de HBS-EP seguido de un equilibrio de 10 minutos en el tampón de desarrollo.

20 Las variantes Z, Z09782 (SEC ID NO: 36), Z17351 (SEC ID NO: 37), Z17355 (SEC ID NO: 39) y Z17359 (SEC ID NO: 41) que dirigen a CAIX se diluyeron en un tampón de desarrollo hasta concentraciones finales de 30, 90 y 270 nM y se inyectaron durante 5 minutos, seguido de 15 minutos de disociación en tampón de desarrollo. Se aplicó la regeneración mediante tres pulsos de glicina 10 mM -HCl pH 3.0, seguido de un equilibrado de 5 minutos en un tampón de desarrollo después de cada inyección de analito.

25 Las constantes cinéticas se calcularon a partir de los sensogramas utilizando el modelo 1:1 de Langmuir (HER2, FcRn, CAIX) o la unión 1:1 con el modelo de transferencia de materia (PDGF-R $\beta$  del software BiaEvaluation 4.1 (GE Healthcare). Las curvas de la superficie de blanco se restaron de las curvas de las superficies de ligando y los datos de los ciclos del tampón se restaron de los datos de los ciclos de la muestra de prueba para corregir cualquier posible desplazamiento de la señal.

30 Las constantes cinéticas comparativas para las variantes de Z que se unen a su molécula diana se muestran en la Tabla 11 y en la Fig. 9 se muestran los sensogramas para un subconjunto de las interacciones analizadas. Los datos indican que la afinidad se efectúa solo marginalmente por las sustituciones ND a SE en posición 52-53 y para una pareja de variantes, Z17341 (SEC ID NO: 28) y Z17343 (SEC ID NO: 31), la afinidad es incluso ligeramente mejorada. Una combinación de las sustituciones ND a SE en la posición 52-53 con las sustituciones D36R, D37Q y S39E, tal como en Z17342 (SEC ID NO: 29), Z17344 (SEC ID NO: 32) y Z17348 (SEC ID NO: 35), tuvieron un efecto más negativo en la afinidad debido principalmente a velocidades de disociación más rápidas, pero de todas formas se obtuvieron aglutinantes funcionales con  $K_D$  en el margen  $10^{-9}$  M. Las variantes evaluadas también tenían capacidades de unión conservadas después de 2 semanas de incubación a 37 °C.

35

<b>Variantes Z que unen HER2</b>							
SEQ ID NO:	Muestra de prueba	Original fr. invención	$k_a$ (Ms <sup>-1</sup> )	$k_d$ (s <sup>-1</sup> )	$K_D$ (M) <sup>*</sup>	$K_{DInv} / K_{DOrig}$ <sup>**</sup>	$K_{D(2w)} / K_{D(0)}$ <sup>***</sup>
27	Z02891 (0)	Original	1.33x10 <sup>6</sup>	7.10x10 <sup>-5</sup>	5.4x10 <sup>-11</sup>	1.0	
27	Z02891 (2w)	Original	1.15x10 <sup>6</sup>	7.19x10 <sup>-5</sup>	6.2x10 <sup>-11</sup>	1.0	1.17
28	Z17341 (0)	invención	1.88x10 <sup>6</sup>	8.35x10 <sup>-5</sup>	4.5x10 <sup>-11</sup>	0.83	
28	Z17341 (2w)	invención	2.06x10 <sup>6</sup>	8.91x10 <sup>-5</sup>	4.3x10 <sup>-11</sup>	0.69	0.97
29	Z17342 (0)	invención	8.94x10 <sup>5</sup>	1.57x10 <sup>-3</sup>	1.8x10 <sup>-9</sup>	33	
29	Z17342 (2w)	invención	6.49x10 <sup>5</sup>	1.50x10 <sup>-3</sup>	2.3x10 <sup>-9</sup>	37	1.31
<b>Variantes Z que unen PDGF-Rβ</b>							
SEQ ID NO:	Muestra de prueba	Original fr. invención	$k_a$ (Ms <sup>-1</sup> )	$k_d$ (s <sup>-1</sup> )	$K_D$ (M) <sup>*</sup>	$K_{DInv} / K_{DOrig}$ <sup>**</sup>	$K_{D(2w)} / K_{D(0)}$ <sup>***</sup>
30	Z15805 (0)	Original	7.15x10 <sup>6</sup>	1.39x10 <sup>-3</sup>	1.9x10 <sup>-10</sup>	1.0	
30	Z15805 (2w)	Original	5.81x10 <sup>6</sup>	1.66x10 <sup>-3</sup>	2.9x10 <sup>-10</sup>	1.0	1.47
31	Z17343 (0)	invención	4.80x10 <sup>6</sup>	1.77x10 <sup>-3</sup>	3.7x10 <sup>-10</sup>	1.90	
31	Z17343 (2w)	invención	6.45x10 <sup>6</sup>	1.71x10 <sup>-3</sup>	2.3x10 <sup>-10</sup>	0.93	0.72
32	Z17344 (0)	invención	5.15x10 <sup>7</sup>	6.16x10 <sup>-2</sup>	1.2x10 <sup>-9</sup>	6.19	
32	Z17344 (2w)	invención	5.62x10 <sup>7</sup>	6.23x10 <sup>-2</sup>	1.1x10 <sup>-9</sup>	3.88	0.93
<b>Variantes Z que unen FcRn</b>							
SEQ ID NO:	Muestra de prueba	Original fr. invención	$k_a$ (Ms <sup>-1</sup> )	$k_d$ (s <sup>-1</sup> )	$K_D$ (M) <sup>*</sup>	$K_{DInv} / K_{DOrig}$ <sup>**</sup>	$K_{D(2w)} / K_{D(0)}$ <sup>***</sup>
33	Z10103 (0)	Original	1.60x10 <sup>6</sup>	4.56x10 <sup>-3</sup>	2.9x10 <sup>-9</sup>	1.0	
33	Z10103 (2w)	Original	3.15x10 <sup>6</sup>	5.75 x10 <sup>-3</sup>	1.8x10 <sup>-9</sup>	1.0	0.64
34	Z17347 (0)	invención	1.18x10 <sup>6</sup>	7.99 x10 <sup>-3</sup>	6.7x10 <sup>-9</sup>	2.36	
34	Z17347 (2w)	invención	2.27x10 <sup>6</sup>	8.79 x10 <sup>-3</sup>	3.9x10 <sup>-9</sup>	2.13	0.57
35	Z17348 (0)	invención	1.82x10 <sup>6</sup>	1.00 x10 <sup>-2</sup>	5.5x10 <sup>-9</sup>	1.93	
35	Z17348 (2w)	invención	1.28x10 <sup>6</sup>	8.09 x10 <sup>-3</sup>	6.3x10 <sup>-9</sup>	3.46	1.14
<b>Variantes Z que unen CAIX</b>							
SEQ ID NO:	Muestra de prueba	Original fr. invención	$k_a$ (Ms <sup>-1</sup> )	$k_d$ (s <sup>-1</sup> )	$K_D$ (M) <sup>*</sup>	$K_{DInv} / K_{DOrig}$ <sup>**</sup>	$K_{D(2w)} / K_{D(0)}$ <sup>***</sup>
36	Z09782 (0)	Original	2.08x10 <sup>5</sup>	1.46x10 <sup>-3</sup>	7.0x10 <sup>-9</sup>	1.0	
36	Z09782 (2w)	Original	1.40x10 <sup>5</sup>	1.38x10 <sup>-3</sup>	9.9x10 <sup>-9</sup>	1.0	1.41
37	Z17351 (0)	invención	1.51x10 <sup>5</sup>	2.63x10 <sup>-3</sup>	1.8x10 <sup>-8</sup>	2.49	
37	Z17351 (2w)	invención	1.91x10 <sup>5</sup>	2.86x10 <sup>-3</sup>	1.5x10 <sup>-8</sup>	1.52	0.86
39	Z17355 (0)	invención	1.57x10 <sup>5</sup>	1.23x10 <sup>-3</sup>	7.9x10 <sup>-9</sup>	1.12	
39	Z17355 (2w)	invención	1.16x10 <sup>5</sup>	1.23x10 <sup>-3</sup>	1.1x10 <sup>-8</sup>	1.07	1.35
41	Z17359 (0)	invención	1.68x10 <sup>5</sup>	2.15x10 <sup>-3</sup>	1.3x10 <sup>-8</sup>	1.82	
41	Z17359 (2w)	invención	1.78x10 <sup>5</sup>	2.33x10 <sup>-3</sup>	1.3x10 <sup>-8</sup>	1.32	1.02

Tabla 11. Análisis cinético comparativo de polipéptidos originales y de la invención.

\* Los valores de  $K_D$  no deben considerarse absolutos, ya que se determinaron con fines comparativos y solo incluyeron un número limitado de concentraciones de muestra.

\*\*  $K_D$  relativa que compara la  $K_D$  del polipéptido de la invención respectivo con la  $K_D$  de su polipéptido original (establecido en 1.0) ya sea antes (0) o después de la prueba de estabilidad (2w) descrita en el Ejemplo 12.

\*\*\*  $K_D$  relativa que compara la  $K_D$  de (2w) con  $K_D$  de (0) para cada pareja de polipéptidos idénticos en secuencia.

**Lista detallada de realizaciones**

1. Polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre:

i)  $EX_2X_3X_4AX_6X_7EIX_{10} X_{11}LPNLX_{16}X_{17}X_{18}QX_{20} X_{21}AFIX_{25}X_{26}LX_{28}X_{29}X_{30} PX_{32}QSX_{35}X_{36}LLX_{39}$   
 $AKKLX_{45}X_{46}X_{47}Q$ ,

5 en donde cada uno de  $X_2, X_3, X_4, X_6, X_7, X_{10}, X_{11}, X_{17}, X_{18}, X_{20}, X_{21}, X_{25}$  y  $X_{28}$  corresponde independientemente a cualquier resto de aminoácido; y

en donde, independientemente entre ellos,

$X_{16}$  se selecciona entre N y T;

$X_{26}$  se selecciona entre K y S;

10  $X_{29}X_{30}PX_{32}$  se selecciona entre DDPS y RQPE;

$X_{35}$  se selecciona entre A y S;

$X_{36}$  se selecciona entre E y N;

$X_{39}$  se selecciona entre A, C y S;

$X_{45}$  se selecciona entre E, N y S;

15  $X_{46}$  se selecciona entre D, E y S;

$X_{47}$  se selecciona entre A y S; y

ii) una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 91% de identidad con la secuencia definida en i), siempre y cuando  $X_{46}$  no sea D o E cuando  $X_{45}$  es N.

2. Polipéptido de acuerdo con el ítem 1, en el que  $X_{16}$  es T.

20 3. Polipéptido de acuerdo con el ítem 1 o 2, en el que  $X_{26}$  es K.

4. Polipéptido de acuerdo con cualquier ítem anterior, en el que  $X_{29}X_{30}PX_{32}$  es DDPS.

5. Polipéptido de acuerdo con el ítem 1-3, en el que  $X_{29}X_{30}PX_{32}$  es RQPE.

6. Polipéptido de acuerdo con cualquier ítem anterior, en el que  $X_{35}$  es S.

7. Polipéptido de acuerdo con cualquier ítem anterior, en el que  $X_{36}$  es E.

25 8. Polipéptido de acuerdo con cualquier ítem anterior, en el que  $X_{39}$  es S.

9. Polipéptido de acuerdo con cualquier ítem anterior, en el que  $X_{45}$  se selecciona entre E y S.

10. Polipéptido de acuerdo con el ítem 9, en el que  $X_{45}$  es E.

11. Polipéptido de acuerdo con el ítem 9, en el que  $X_{45}$  es S.

12. Polipéptido de acuerdo con cualquier ítem precedente, en el que  $X_{46}$  se selecciona entre E y S.

30 13. Polipéptido de acuerdo con el ítem 12, en el que  $X_{46}$  es E.

14. Polipéptido de acuerdo con el ítem 12, en el que  $X_{46}$  es S.

15. Polipéptido de acuerdo con el ítem 12, en el que  $X_{46}$  es D.

16. Polipéptido de acuerdo con cualquier ítem precedente, en el que  $X_{45}X_{46}$  se selecciona entre EE, ES, SE y SS.

17. Polipéptido de acuerdo con el ítem 16, en el que  $X_{45}X_{46}$  se selecciona entre ES y SE.

35 18. Polipéptido de acuerdo con el ítem 17, en donde  $X_{45}X_{46}$  es ES.

19. Polipéptido de acuerdo con el ítem 17, en donde  $X_{45}X_{46}$  es SE.

20. Polipéptido de acuerdo con el ítem 17, en el que  $X_{45}X_{46}$  es SD.

21. Polipéptido de acuerdo con cualquier ítem precedente, en el que  $X_{47}$  es S.



22. Polipéptido de acuerdo con uno cualquiera de los ítems 1-21, que comprende restos de aminoácidos adicionales.
23. Polipéptido de acuerdo con el ítem 22, que comprende restos de aminoácidos adicionales en el extremo C de dicho polipéptido.
24. Polipéptido de acuerdo con el ítem 23, en donde los restos de aminoácidos adicionales en el extremo C de dicho polipéptido comprenden AP.
25. Polipéptido de acuerdo con el ítem 22, que comprende restos de aminoácidos adicionales en el extremo N de dicho polipéptido.
26. Polipéptido de acuerdo con el ítem 25, en el que los restos de aminoácidos adicionales en el extremo C de dicho polipéptido comprenden AEAKYAK.
27. Polipéptido de acuerdo con uno cualquiera de los ítems 22-26, en el que los restos de aminoácidos adicionales se añaden con el propósito de unión, producción, purificación, estabilización, acoplamiento o detección del polipéptido.
28. Polipéptido de acuerdo con uno cualquiera de los ítems 22-27, en el que dichos restos de aminoácidos adicionales constituyen uno o más dominios de polipéptido.
29. Polipéptido de acuerdo con el ítem 28, en el que dichos uno o más dominios de polipéptido tienen una función seleccionada entre el grupo de una función de unión, una función enzimática, una función quelante de iones metálicos y una función fluorescente, o mezclas de las mismas.
30. Polipéptido de acuerdo con uno cualquiera de los ítems 1-27, que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre:

YAK EX<sub>2</sub>X<sub>3</sub>X<sub>4</sub>AX<sub>6</sub>X<sub>7</sub>EIX<sub>10</sub> X<sub>11</sub>LPNLX<sub>16</sub>X<sub>17</sub>X<sub>18</sub>QX<sub>20</sub> X<sub>21</sub>AFIX<sub>25</sub>X<sub>26</sub>LX<sub>28</sub>X<sub>29</sub>X<sub>30</sub>  
 PX<sub>32</sub>Q SX<sub>35</sub>X<sub>36</sub>LLX<sub>39</sub>E AKKLX<sub>45</sub>X<sub>46</sub>X<sub>47</sub>Q AP; y  
 FNK EX<sub>2</sub>X<sub>3</sub>X<sub>4</sub>AX<sub>6</sub>X<sub>7</sub>EIX<sub>10</sub> X<sub>11</sub>LPNLX<sub>16</sub>X<sub>17</sub>X<sub>18</sub>QX<sub>20</sub> X<sub>21</sub>AFIX<sub>25</sub>X<sub>26</sub>LX<sub>28</sub>X<sub>29</sub>X<sub>30</sub>  
 PX<sub>32</sub>Q SX<sub>35</sub>X<sub>36</sub>LLX<sub>39</sub>E AKKLX<sub>45</sub>X<sub>46</sub>X<sub>47</sub>Q AP

en donde cada X<sub>y</sub> es como se define en uno cualquiera de los ítems 1-21.

31. Polipéptido de acuerdo con el ítem 30, que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre:
- ADNNFNK EX<sub>2</sub>X<sub>3</sub>X<sub>4</sub>AX<sub>6</sub>X<sub>7</sub>EIX<sub>10</sub> X<sub>11</sub>LPNLX<sub>16</sub>X<sub>17</sub>X<sub>18</sub>QX<sub>20</sub>  
 X<sub>21</sub>AFIX<sub>25</sub>X<sub>26</sub>LX<sub>28</sub>X<sub>29</sub>X<sub>30</sub> PX<sub>32</sub>Q SX<sub>35</sub>X<sub>36</sub>LLX<sub>39</sub>E AKKLX<sub>45</sub>X<sub>46</sub>X<sub>47</sub>Q APK;  
 ADNKFNK EX<sub>2</sub>X<sub>3</sub>X<sub>4</sub>AX<sub>6</sub>X<sub>7</sub>EIX<sub>10</sub> X<sub>11</sub>LPNLX<sub>16</sub>X<sub>17</sub>X<sub>18</sub>QX<sub>20</sub>  
 X<sub>21</sub>AFIX<sub>25</sub>X<sub>26</sub>LX<sub>28</sub>X<sub>29</sub>X<sub>30</sub> PX<sub>32</sub>Q SX<sub>35</sub>X<sub>36</sub>LLX<sub>39</sub>E AKKLX<sub>45</sub>X<sub>46</sub>X<sub>47</sub>Q APK;  
 VDNKFNK EX<sub>2</sub>X<sub>3</sub>X<sub>4</sub>AX<sub>6</sub>X<sub>7</sub>EIX<sub>10</sub> X<sub>11</sub>LPNLX<sub>16</sub>X<sub>17</sub>X<sub>18</sub>QX<sub>20</sub>  
 X<sub>21</sub>AFIX<sub>25</sub>X<sub>26</sub>LX<sub>28</sub>X<sub>29</sub>X<sub>30</sub> PX<sub>32</sub>Q SX<sub>35</sub>X<sub>36</sub>LLX<sub>39</sub>E AKKLX<sub>45</sub>X<sub>46</sub>X<sub>47</sub>Q APK;  
 VDAKIAK EX<sub>2</sub>X<sub>3</sub>X<sub>4</sub>AX<sub>6</sub>X<sub>7</sub>EIX<sub>10</sub> X<sub>11</sub>LPNLX<sub>16</sub>X<sub>17</sub>X<sub>18</sub>QX<sub>20</sub>  
 X<sub>21</sub>AFIX<sub>25</sub>X<sub>26</sub>LX<sub>28</sub>X<sub>29</sub>X<sub>30</sub> PX<sub>32</sub>Q SX<sub>35</sub>X<sub>36</sub>LLX<sub>39</sub>E AKKLX<sub>45</sub>X<sub>46</sub>X<sub>47</sub>Q APK;  
 y  
 AEAKIAK EX<sub>2</sub>X<sub>3</sub>X<sub>4</sub>AX<sub>6</sub>X<sub>7</sub>EIX<sub>10</sub> X<sub>11</sub>LPNLX<sub>16</sub>X<sub>17</sub>X<sub>18</sub>QX<sub>20</sub>

32. Polipéptido de acuerdo con uno cualquiera de los ítems 1-31 que tiene afinidad por una diana predeterminada, en el que dicha diana se selecciona opcionalmente entre el grupo que consiste en ABD, HER2, TNF $\alpha$ , EGFR, IGF1R, IgG, PDGFR $\beta$ , HER3, C5, FcRn, CAIX, amiloide  $\beta$ , CD4, IL8, IL6 e insulina.
33. Polipéptido de fusión que comprende un polipéptido de acuerdo con uno cualquiera de los ítems 1-32 como resto.
34. Polipéptido o polipéptido de fusión de acuerdo con uno cualquiera de los ítems 1-33, que comprende además una etiqueta.

35. Polipéptido o polipéptido de fusión de acuerdo con uno cualquiera de los ítems 1-34, que comprende además un agente terapéutico.
36. Polinucleótido que codifica un polipéptido o un polipéptido de fusión de acuerdo con uno cualquiera de los ítems 1-33.
- 5 37. Población de variantes de polipéptido basada en un andamiaje común, comprendiendo cada polipéptido de la población una secuencia de aminoácidos seleccionada entre:
- i)  $EX_2X_3X_4AX_6X_7EIX_{10} X_{11}LPNLX_{16}X_{17}X_{18}QX_{20} X_{21}AFIX_{25}X_{26}LX_{28}X_{29}X_{30}$   
 $PX_{32}QSX_{35}X_{36}LLX_{39}E AKKLX_{45}X_{46}X_{47}Q$
- 10 en donde cada uno de  $X_2, X_3, X_4, X_6, X_7, X_{10}, X_{11}, X_{17}, X_{18}, X_{20}, X_{21}, X_{25}$  y  $X_{28}$  corresponde independientemente a cualquier resto de aminoácido; y
- en donde, independientemente entre ellos,
- $X_{16}$  se selecciona entre N y T;  
 $X_{26}$  se selecciona entre K y S;  
 $X_{29}X_{30}PX_{32}$  se selecciona entre DDPS y RQPE;
- 15  $X_{35}$  se selecciona entre A y S;  
 $X_{36}$  se selecciona entre E y N;  
 $X_{39}$  se selecciona entre A, C y S;  
 $X_{45}$  se selecciona entre E, N y S;  
 $X_{46}$  se selecciona entre D, E y S;
- 20  $X_{47}$  se selecciona entre A y S; y
- ii) una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 91% de identidad con la secuencia definida en i), siempre y cuando  $X_{46}$  no sea D o E cuando  $X_{45}$  es N.
38. Población de acuerdo con el ítem 37, que comprende al menos  $1 \times 10^4$  moléculas de polipéptido únicas.
39. Población de acuerdo con el ítem 38, que comprende al menos  $1 \times 10^6$  moléculas de polipéptido únicas.
- 25 40. Población de acuerdo con el ítem 39, que comprende al menos  $1 \times 10^8$  moléculas de polipéptido únicas.
41. Población de acuerdo con el ítem 40, que comprende al menos  $1 \times 10^{10}$  moléculas de polipéptido únicas.
42. Población de acuerdo con el ítem 41, que comprende al menos  $1 \times 10^{12}$  moléculas de polipéptido únicas.
43. Población de acuerdo con el ítem 42, que comprende al menos  $1 \times 10^{14}$  moléculas de polipéptido únicas.
- 30 44. Población de polinucleótidos, caracterizada porque en cada miembro de la misma codifica un miembro de una población de polipéptidos de acuerdo con uno cualquiera de los ítems 37-43.
45. Combinación de una población de polipéptidos de acuerdo con uno cualquiera de los ítems 37-43 con una población de polinucleótidos de acuerdo con el ítem 44, en donde cada miembro de dicha población de polipéptidos está física o espacialmente asociado con el polinucleótido que codifica ese miembro a través de medios para el acoplamiento genotipo-fenotipo.
- 35 46. Combinación de acuerdo con el ítem 45, en la que dichos medios para el acoplamiento genotipo-fenotipo comprenden un sistema de presentación de fagos.
47. Combinación de acuerdo con el ítem 45, en la que dichos medios para el acoplamiento genotipo-fenotipo comprenden un sistema de presentación de selección de la superficie celular.
- 40 48. Combinación de acuerdo con el ítem 47, en donde dicho sistema de presentación de la superficie celular comprende células procariotas.
49. Combinación de acuerdo con el ítem 48, en donde dichas células procariotas son células Gram-positivas.

## ES 2 742 505 T3

50. Combinación de acuerdo con el ítem 47, en donde dicho sistema de presentación de la superficie celular comprende células eucariotas.
51. Combinación de acuerdo con el ítem 50, en donde dichas células eucariotas son células de levadura.
52. Combinación de acuerdo con el ítem 45, en donde dichos medios para el acoplamiento genotipo-fenotipo comprenden un sistema de presentación libre de células.
53. Combinación de acuerdo con el ítem 52, en donde dicho sistema de presentación libre de células comprende un sistema de presentación de ribosomas.
54. Combinación de acuerdo con el ítem 52, en donde dicho sistema de presentación libre de células comprende un sistema de presentación de compartimentación *in vitro*.
55. Combinación de acuerdo con el ítem 52, en donde dicho sistema de presentación libre de células comprende un sistema para presentación *cis*.
56. Combinación de acuerdo con el ítem 52, en donde el sistema de presentación libre de células comprende un sistema de presentación de microperlas.
57. Combinación de acuerdo con el ítem 45, en donde dicho medio para el acoplamiento genotipo-fenotipo comprende un sistema sin presentación.
58. Combinación de acuerdo con el ítem 57, en donde dicho sistema sin presentación es un ensayo de complementación de fragmentos de proteínas.
59. Método para seleccionar un polipéptido deseado que tiene afinidad para una diana predeterminada, de una población de polipéptidos, que comprende las etapas:
- (a) proporcionar una población de polipéptidos de acuerdo con uno cualquiera de los ítems 37-43;
  - (b) poner en contacto la población de polipéptidos con la diana predeterminada bajo condiciones que permiten la interacción específica entre la diana y al menos un polipéptido deseado que tiene afinidad para la diana; y
  - (c) seleccionar, sobre la base de dicha interacción específica, el al menos un polipéptido deseado de la población restante de polipéptidos.
60. Método de acuerdo con el ítem 59, en donde la etapa (a) comprende las etapas preparatorias de proporcionar una población de polinucleótidos de acuerdo con el ítem 44 y expresar dicha población de polinucleótidos para producir dicha población de polipéptidos.
61. Método de acuerdo con el ítem 60, en donde cada miembro de dicha población de polipéptidos está asociado física o espacialmente con el polinucleótido que codifica ese miembro a través de medios para el acoplamiento genotipo-fenotipo.
62. Método de acuerdo con el ítem 61, en donde dichos medios para el acoplamiento genotipo-fenotipo son como se definen en uno cualquiera de los ítems 46-58.
63. Método para aislar un polinucleótido que codifica un polipéptido deseado que tiene afinidad para un objetivo predeterminado, que comprende las etapas:
- seleccionar dicho polipéptido deseado y el polinucleótido que lo codifica, entre una población de polipéptidos usando el método de acuerdo con el ítem 59; y
  - aislar el polinucleótido así separado, que codifica el polipéptido deseado.
64. Método para identificar un polipéptido deseado que tiene afinidad por una diana predeterminada, que comprende las etapas:
- aislar un polinucleótido que codifica dicho polipéptido deseado usando el método de acuerdo con el ítem 63; y
  - secuenciar el polinucleótido para establecer por deducción la secuencia de aminoácidos de dicho polipéptido deseado.
65. Método para seleccionar e identificar un polipéptido deseado que tiene afinidad por una diana predeterminada de una población de polipéptidos, que comprende las etapas:
- (a) sintetizar cada miembro de una población de polipéptidos de acuerdo con uno cualquiera de los ítems 37-43 en un portador o perla separados;

(b) seleccionar o enriquecer los portadores o perlas basándose en la interacción del polipéptido con la diana predeterminada; y

(c) identificar el polipéptido mediante la metodología de caracterización de proteínas.

5 69. Método de acuerdo con el ítem 65, en donde la metodología de caracterización de proteínas utilizada en la etapa (c) es el análisis espectrométrico de masas.

**Lista de secuencias**

<110> AFFIBODY AB

10 <120> NUEVOS POLIPÉPTIDOS

<130> 21071642

<150> EP13182022.7

15 <151> 2013-08-28

<160> 54

<170> PatentIn versión 3.5

20 <210> 1

<211> 108

<212> PRT

<213> SECUENCIA ARTIFICIAL

25 <220>

<223> Variante Z de unión C5 diseñada

<400> 1

Ala Glu Ala Lys Tyr Ala Lys Glu Val Leu Glu Ala Trp Asp Glu Ile  
1 5 10 15

Asp Arg Leu Pro Asn Leu Thr Ile Glu Gln Trp Leu Ala Phe Ile Asn  
20 25 30

Lys Leu Asp Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ser Glu Leu Leu Ser Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ser Gln Ala Pro Lys Val Asp Gly Ser Leu Ala  
50 55 60

Glu Ala Lys Glu Ala Ala Asn Ala Glu Leu Asp Ser Tyr Gly Val Ser  
65 70 75 80

Asp Phe Tyr Lys Arg Leu Ile Asp Lys Ala Lys Thr Val Glu Gly Val  
85 90 95

Glu Ala Leu Lys Asp Ala Ile Leu Ala Ala Leu Pro  
100 105

30 <210> 2

<211> 46

<212> PRT

<213> SECUENCIA ARTIFICIAL

35 <220>

<223> Polipéptido de unión a albúmina diseñado

<400> 2

ES 2 742 505 T3

Leu Ala Glu Ala Lys Glu Ala Ala Asn Ala Glu Leu Asp Ser Tyr Gly  
1 5 10 15

Val Ser Asp Phe Tyr Lys Arg Leu Ile Asp Lys Ala Lys Thr Val Glu  
20 25 30

Gly Val Glu Ala Leu Lys Asp Ala Ile Leu Ala Ala Leu Pro  
35 40 45

<210> 3

<211> 1676

5 <212> PRT

<213> HOMO SAPIENS

<400> 3

Met Gly Leu Leu Gly Ile Leu Cys Phe Leu Ile Phe Leu Gly Lys Thr  
1 5 10 15

Trp Gly Gln Glu Gln Thr Tyr Val Ile Ser Ala Pro Lys Ile Phe Arg  
20 25 30

Val Gly Ala Ser Glu Asn Ile Val Ile Gln Val Tyr Gly Tyr Thr Glu  
35 40 45

Ala Phe Asp Ala Thr Ile Ser Ile Lys Ser Tyr Pro Asp Lys Lys Phe  
50 55 60

Ser Tyr Ser Ser Gly His Val His Leu Ser Ser Glu Asn Lys Phe Gln  
65 70 75 80

Asn Ser Ala Ile Leu Thr Ile Gln Pro Lys Gln Leu Pro Gly Gly Gln  
85 90 95

Asn Pro Val Ser Tyr Val Tyr Leu Glu Val Val Ser Lys His Phe Ser  
100 105 110

Lys Ser Lys Arg Met Pro Ile Thr Tyr Asp Asn Gly Phe Leu Phe Ile  
115 120 125

His Thr Asp Lys Pro Val Tyr Thr Pro Asp Gln Ser Val Lys Val Arg  
130 135 140

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

Leu Thr Phe Ile Asp Pro Glu Gly Ser Glu Val Asp Met Val Glu Glu  
165 170 175

ES 2 742 505 T3

Ile Asp His Ile Gly Ile Ile Ser Phe Pro Asp Phe Lys Ile Pro Ser  
 180 185 190

Asn Pro Arg Tyr Gly Met Trp Thr Ile Lys Ala Lys Tyr Lys Glu Asp  
 195 200 205

Phe Ser Thr Thr Gly Thr Ala Tyr Phe Glu Val Lys Glu Tyr Val Leu  
 210 215 220

Pro His Phe Ser Val Ser Ile Glu Pro Glu Tyr Asn Phe Ile Gly Tyr  
 225 230 235 240

Lys Asn Phe Lys Asn Phe Glu Ile Thr Ile Lys Ala Arg Tyr Phe Tyr  
 245 250 255

Asn Lys Val Val Thr Glu Ala Asp Val Tyr Ile Thr Phe Gly Ile Arg  
 260 265 270

Glu Asp Leu Lys Asp Asp Gln Lys Glu Met Met Gln Thr Ala Met Gln  
 275 280 285

Asn Thr Met Leu Ile Asn Gly Ile Ala Gln Val Thr Phe Asp Ser Glu  
 290 295 300

Thr Ala Val Lys Glu Leu Ser Tyr Tyr Ser Leu Glu Asp Leu Asn Asn  
 305 310 315 320

Lys Tyr Leu Tyr Ile Ala Val Thr Val Ile Glu Ser Thr Gly Gly Phe  
 325 330 335

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

Lys Leu Asn Leu Val Ala Thr Pro Leu Phe Leu Lys Pro Gly Ile Pro  
 355 360 365

Tyr Pro Ile Lys Val Gln Val Lys Asp Ser Leu Asp Gln Leu Val Gly  
 370 375 380

Gly Val Pro Val Thr Leu Asn Ala Gln Thr Ile Asp Val Asn Gln Glu  
 385 390 395 400

Thr Ser Asp Leu Asp Pro Ser Lys Ser Val Thr Arg Val Asp Asp Gly  
 405 410 415

Val Ala Ser Phe Val Leu Asn Leu Pro Ser Gly Val Thr Val Leu Glu  
 420 425 430

ES 2 742 505 T3

Phe Asn Val Lys Thr Asp Ala Pro Asp Leu Pro Glu Glu Asn Gln Ala  
 435 440 445  
 Arg Glu Gly Tyr Arg Ala Ile Ala Tyr Ser Ser Leu Ser Gln Ser Tyr  
 450 455 460  
 Leu Tyr Ile Asp Trp Thr Asp Asn His Lys Ala Leu Leu Val Gly Glu  
 465 470 475 480  
 His Leu Asn Ile Ile Val Thr Pro Lys Ser Pro Tyr Ile Asp Lys Ile  
 485 490 495  
 Thr His Tyr Asn Tyr Leu Ile Leu Ser Lys Gly Lys Ile Ile His Phe  
 500 505 510  
 Gly Thr Arg Glu Lys Phe Ser Asp Ala Ser Tyr Gln Ser Ile Asn Ile  
 515 520 525  
 Pro Val Thr Gln Asn Met Val Pro Ser Ser Arg Leu Leu Val Tyr Tyr  
 530 535 540  
 Ile Val Thr Gly Glu Gln Thr Ala Glu Leu Val Ser Asp Ser Val Trp  
 545 550 555 560  
 Leu Asn Ile Glu Glu Lys Cys Gly Asn Gln Leu Gln Val His Leu Ser  
 565 570 575  
 Pro Asp Ala Asp Ala Tyr Ser Pro Gly Gln Thr Val Ser Leu Asn Met  
 580 585 590  
 Ala Thr Gly Met Asp Ser Trp Val Ala Leu Ala Ala Val Asp Ser Ala  
 595 600 605  
 Val Tyr Gly Val Gln Arg Gly Ala Lys Lys Pro Leu Glu Arg Val Phe  
 610 615 620  
 Gln Phe Leu Glu Lys Ser Asp Leu Gly Cys Gly Ala Gly Gly Gly Leu  
 625 630 635 640  
 Asn Asn Ala Asn Val Phe His Leu Ala Gly Leu Thr Phe Leu Thr Asn  
 645 650 655  
 Ala Asn Ala Asp Asp Ser Gln Glu Asn Asp Glu Pro Cys Lys Glu Ile  
 660 665 670  
 Leu Arg Pro Arg Arg Thr Leu Gln Lys Lys Ile Glu Glu Ile Ala Ala  
 675 680 685

ES 2 742 505 T3

Lys Tyr Lys His Ser Val Val Lys Lys Cys Cys Tyr Asp Gly Ala Cys  
 690 695 700  
 Val Asn Asn Asp Glu Thr Cys Glu Gln Arg Ala Ala Arg Ile Ser Leu  
 705 710 715 720  
 Gly Pro Arg Cys Ile Lys Ala Phe Thr Glu Cys Cys Val Val Ala Ser  
 725 730 735  
 Gln Leu Arg Ala Asn Ile Ser His Lys Asp Met Gln Leu Gly Arg Leu  
 740 745 750  
 His Met Lys Thr Leu Leu Pro Val Ser Lys Pro Glu Ile Arg Ser Tyr  
 755 760 765  
 Phe Pro Glu Ser Trp Leu Trp Glu Val His Leu Val Pro Arg Arg Lys  
 770 775 780  
 Gln Leu Gln Phe Ala Leu Pro Asp Ser Leu Thr Thr Trp Glu Ile Gln  
 785 790 795 800  
 Gly Val Gly Ile Ser Asn Thr Gly Ile Cys Val Ala Asp Thr Val Lys  
 805 810 815  
 Ala Lys Val Phe Lys Asp Val Phe Leu Glu Met Asn Ile Pro Tyr Ser  
 820 825 830  
 Val Val Arg Gly Glu Gln Ile Gln Leu Lys Gly Thr Val Tyr Asn Tyr  
 835 840 845  
 Arg Thr Ser Gly Met Gln Phe Cys Val Lys Met Ser Ala Val Glu Gly  
 850 855 860  
 Ile Cys Thr Ser Glu Ser Pro Val Ile Asp His Gln Gly Thr Lys Ser  
 865 870 875 880  
 Ser Lys Cys Val Arg Gln Lys Val Glu Gly Ser Ser Ser His Leu Val  
 885 890 895  
 Thr Phe Thr Val Leu Pro Leu Glu Ile Gly Leu His Asn Ile Asn Phe  
 900 905 910  
 Ser Leu Glu Thr Trp Phe Gly Lys Glu Ile Leu Val Lys Thr Leu Arg  
 915 920 925  
 Val Val Pro Glu Gly Val Lys Arg Glu Ser Tyr Ser Gly Val Thr Leu





ES 2 742 505 T3

Phe Leu Leu Glu Asn Thr Leu Pro Ala Gln Ser Thr Phe Thr Leu  
 1175 1180 1185  
  
 Ala Ile Ser Ala Tyr Ala Leu Ser Leu Gly Asp Lys Thr His Pro  
 1190 1195 1200  
  
 Gln Phe Arg Ser Ile Val Ser Ala Leu Lys Arg Glu Ala Leu Val  
 1205 1210 1215  
  
 Lys Gly Asn Pro Pro Ile Tyr Arg Phe Trp Lys Asp Asn Leu Gln  
 1220 1225 1230  
  
 His Lys Asp Ser Ser Val Pro Asn Thr Gly Thr Ala Arg Met Val  
 1235 1240 1245  
  
 Glu Thr Thr Ala Tyr Ala Leu Leu Thr Ser Leu Asn Leu Lys Asp  
 1250 1255 1260  
  
 Ile Asn Tyr Val Asn Pro Val Ile Lys Trp Leu Ser Glu Glu Gln  
 1265 1270 1275  
  
 Arg Tyr Gly Gly Gly Phe Tyr Ser Thr Gln Asp Thr Ile Asn Ala  
 1280 1285 1290  
  
 Ile Glu Gly Leu Thr Glu Tyr Ser Leu Leu Val Lys Gln Leu Arg  
 1295 1300 1305  
  
 Leu Ser Met Asp Ile Asp Val Ser Tyr Lys His Lys Gly Ala Leu  
 1310 1315 1320  
  
 His Asn Tyr Lys Met Thr Asp Lys Asn Phe Leu Gly Arg Pro Val  
 1325 1330 1335  
  
 Glu Val Leu Leu Asn Asp Asp Leu Ile Val Ser Thr Gly Phe Gly  
 1340 1345 1350  
  
 Ser Gly Leu Ala Thr Val His Val Thr Thr Val Val His Lys Thr  
 1355 1360 1365  
  
 Ser Thr Ser Glu Glu Val Cys Ser Phe Tyr Leu Lys Ile Asp Thr  
 1370 1375 1380  
  
 Gln Asp Ile Glu Ala Ser His Tyr Arg Gly Tyr Gly Asn Ser Asp  
 1385 1390 1395  
  
 Tyr Lys Arg Ile Val Ala Cys Ala Ser Tyr Lys Pro Ser Arg Glu  
 1400 1405 1410

ES 2 742 505 T3

Glu Ser Ser Ser Gly Ser Ser His Ala Val Met Asp Ile Ser Leu  
1415 1420 1425

Pro Thr Gly Ile Ser Ala Asn Glu Glu Asp Leu Lys Ala Leu Val  
1430 1435 1440

Glu Gly Val Asp Gln Leu Phe Thr Asp Tyr Gln Ile Lys Asp Gly  
1445 1450 1455

His Val Ile Leu Gln Leu Asn Ser Ile Pro Ser Ser Asp Phe Leu  
1460 1465 1470

Cys Val Arg Phe Arg Ile Phe Glu Leu Phe Glu Val Gly Phe Leu  
1475 1480 1485

Ser Pro Ala Thr Phe Thr Val Tyr Glu Tyr His Arg Pro Asp Lys  
1490 1495 1500

Gln Cys Thr Met Phe Tyr Ser Thr Ser Asn Ile Lys Ile Gln Lys  
1505 1510 1515

Val Cys Glu Gly Ala Ala Cys Lys Cys Val Glu Ala Asp Cys Gly  
1520 1525 1530

Gln Met Gln Glu Glu Leu Asp Leu Thr Ile Ser Ala Glu Thr Arg  
1535 1540 1545

Lys Gln Thr Ala Cys Lys Pro Glu Ile Ala Tyr Ala Tyr Lys Val  
1550 1555 1560

Ser Ile Thr Ser Ile Thr Val Glu Asn Val Phe Val Lys Tyr Lys  
1565 1570 1575

Ala Thr Leu Leu Asp Ile Tyr Lys Thr Gly Glu Ala Val Ala Glu  
1580 1585 1590

Lys Asp Ser Glu Ile Thr Phe Ile Lys Lys Val Thr Cys Thr Asn  
1595 1600 1605

Ala Glu Leu Val Lys Gly Arg Gln Tyr Leu Ile Met Gly Lys Glu  
1610 1615 1620

Ala Leu Gln Ile Lys Tyr Asn Phe Ser Phe Arg Tyr Ile Tyr Pro  
1625 1630 1635

Leu Asp Ser Leu Thr Trp Ile Glu Tyr Trp Pro Arg Asp Thr Thr  
1640 1645 1650

Cys Ser Ser Cys Gln Ala Phe Leu Ala Asn Leu Asp Glu Phe Ala  
1655 1660 1665

Glu Asp Ile Phe Leu Asn Gly Cys  
1670 1675

<210> 4

5 <211> 108

<212> PRT

<213> SECUENCIA ARTIFICIAL

ES 2 742 505 T3

<220>

<223> Variante Z de unión C5 diseñada

5

<400> 4

Ala Glu Ala Lys Tyr Ala Lys Glu Val Leu Glu Ala Trp Asp Glu Ile  
1 5 10 15

Asp Arg Leu Pro Asn Leu Thr Ile Glu Gln Trp Leu Ala Phe Ile Asn  
20 25 30

Lys Leu Asp Arg Gln Pro Glu Gln Ser Ser Glu Leu Leu Ser Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ser Gln Ala Pro Lys Val Asp Gly Ser Leu Ala  
50 55 60

Glu Ala Lys Glu Ala Ala Asn Ala Glu Leu Asp Ser Tyr Gly Val Ser  
65 70 75 80

Asp Phe Tyr Lys Arg Leu Ile Asp Lys Ala Lys Thr Val Glu Gly Val  
85 90 95

Glu Ala Leu Lys Asp Ala Ile Leu Ala Ala Leu Pro  
100 105

<210> 5

<211> 108

10

<212> PRT

<213> SECUENCIA ARTIFICIAL

<220>

<223> Variante Z de unión C5 diseñada

15

<400> 5

Ala Glu Ala Lys Tyr Ala Lys Glu Val Leu Glu Ala Trp Asp Glu Ile  
1 5 10 15

Asp Arg Leu Pro Asn Leu Thr Ile Glu Gln Trp Leu Ala Phe Ile Asn  
20 25 30

Lys Leu Asp Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ser Glu Leu Leu Ser Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Ser Glu Ser Gln Ala Pro Lys Val Asp Gly Ser Leu Ala  
50 55 60

Glu Ala Lys Glu Ala Ala Asn Ala Glu Leu Asp Ser Tyr Gly Val Ser  
65 70 75 80

Asp Phe Tyr Lys Arg Leu Ile Asp Lys Ala Lys Thr Val Glu Gly Val  
85 90 95

Glu Ala Leu Lys Asp Ala Ile Leu Ala Ala Leu Pro  
100 105

20

<210> 6

<211> 108

ES 2 742 505 T3

<212> PRT  
 <213> SECUENCIA ARTIFICIAL

5 <220>  
 <223> Variante Z de unión C5 diseñada

<400> 6  
 Ala Glu Ala Lys Tyr Ala Lys Glu Val Leu Glu Ala Trp Asp Glu Ile  
 1 5 10 15  
 Asp Arg Leu Pro Asn Leu Thr Ile Glu Gln Trp Leu Ala Phe Ile Asn  
 20 25 30  
 Lys Leu Asp Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ser Glu Leu Leu Ser Glu Ala  
 35 40 45  
 Lys Lys Leu Asn Asp Ser Gln Ala Pro Lys Val Asp Gly Ser Leu Ala  
 50 55 60  
 Glu Ala Lys Val Leu Ala Asn Arg Glu Leu Asp Lys Tyr Gly Val Ser  
 65 70 75 80  
 Asp Phe Tyr Lys Arg Leu Ile Asn Lys Ala Lys Thr Val Glu Gly Val  
 85 90 95  
 Glu Ala Leu Lys Leu His Ile Leu Ala Ala Leu Pro  
 100 105

10 <210> 7  
 <211> 108  
 <212> PRT  
 <213> SECUENCIA ARTIFICIAL

15 <220>  
 <223> Variante Z de unión C5 diseñada

<400> 7  
 Ala Glu Ala Lys Tyr Ala Lys Glu Val Leu Glu Ala Trp Ser Glu Ile  
 1 5 10 15  
 Asp Arg Leu Pro Asn Leu Thr Ile Glu Gln Trp Leu Ala Phe Ile Asn  
 20 25 30  
 Lys Leu Asp Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ser Glu Leu Leu Ser Glu Ala  
 35 40 45  
 Lys Lys Leu Asn Asp Ser Gln Ala Pro Lys Val Asp Gly Ser Leu Ala  
 50 55 60  
 Glu Ala Lys Glu Ala Ala Asn Ala Glu Leu Asp Ser Tyr Gly Val Ser  
 65 70 75 80  
 Asp Phe Tyr Lys Arg Leu Ile Asp Lys Ala Lys Thr Val Glu Gly Val  
 85 90 95  
 Glu Ala Leu Lys Asp Ala Ile Leu Ala Ala Leu Pro  
 100 105

20

ES 2 742 505 T3

<210> 8  
<211> 108  
<212> PRT  
<213> SECUENCIA ARTIFICIAL

5

<220>  
<223> Variante Z de unión C5 diseñada

<400> 8  
Ala Glu Ala Lys Tyr Ala Lys Glu Val Leu Glu Ala Trp Asp Glu Ile  
1 5 10 15

Glu Arg Leu Pro Asn Leu Thr Ile Glu Gln Trp Leu Ala Phe Ile Asn  
20 25 30

Lys Leu Asp Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ser Glu Leu Leu Ser Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ser Gln Ala Pro Lys Val Asp Gly Ser Leu Ala  
50 55 60

10

Glu Ala Lys Glu Ala Ala Asn Ala Glu Leu Asp Ser Tyr Gly Val Ser  
65 70 75 80

Asp Phe Tyr Lys Arg Leu Ile Asp Lys Ala Lys Thr Val Glu Gly Val  
85 90 95

Glu Ala Leu Lys Asp Ala Ile Leu Ala Ala Leu Pro  
100 105

<210> 9  
<211> 108  
<212> PRT  
<213> SECUENCIA ARTIFICIAL

15

<220>  
<223> Variante Z de unión C5 diseñada

20

<400> 9

ES 2 742 505 T3

Ala Glu Ala Lys Tyr Ala Lys Glu Val Leu Glu Ala Trp Asp Glu Ile  
1 5 10 15

Asp Arg Leu Pro Asn Leu Thr Ile Glu Gln Trp Leu Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Lys Leu Asp Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ser Glu Leu Leu Ser Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ser Gln Ala Pro Lys Val Asp Gly Ser Leu Ala  
50 55 60

Glu Ala Lys Glu Ala Ala Asn Ala Glu Leu Asp Ser Tyr Gly Val Ser  
65 70 75 80

Asp Phe Tyr Lys Arg Leu Ile Asp Lys Ala Lys Thr Val Glu Gly Val  
85 90 95

Glu Ala Leu Lys Asp Ala Ile Leu Ala Ala Leu Pro  
100 105

<210> 10  
<211> 108  
5 <212> PRT  
<213> SECUENCIA ARTIFICIAL

<220>  
10 <223> Variante Z de unión C5 diseñada

<400> 10  
Ala Glu Ala Lys Tyr Ala Lys Glu Val Leu Glu Ala Trp Asp Glu Ile  
1 5 10 15  
Asp Arg Leu Pro Asn Leu Thr Ile Glu Gln Trp Leu Ala Phe Ile Asn  
20 25 30

Lys Leu Glu Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ser Glu Leu Leu Ser Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ser Gln Ala Pro Lys Val Asp Gly Ser Leu Ala  
50 55 60

Glu Ala Lys Glu Ala Ala Asn Ala Glu Leu Asp Ser Tyr Gly Val Ser  
65 70 75 80

Asp Phe Tyr Lys Arg Leu Ile Asp Lys Ala Lys Thr Val Glu Gly Val  
85 90 95

Glu Ala Leu Lys Asp Ala Ile Leu Ala Ala Leu Pro  
100 105

15 <210> 11  
<211> 103  
<212> PRT  
<213> SECUENCIA ARTIFICIAL

20 <220>  
<223> Variante Z de unión C5 diseñada

<400> 11

ES 2 742 505 T3

Ala Glu Ala Lys Tyr Ala Lys Glu Val Leu Glu Ala Trp Asp Glu Ile  
1 5 10 15

Asp Arg Leu Pro Asn Leu Thr Ile Glu Gln Trp Leu Ala Phe Ile Asn  
20 25 30

Lys Leu Asp Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ser Glu Leu Leu Ser Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ser Gln Ala Pro Leu Ala Glu Ala Lys Glu Ala  
50 55 60

Ala Asn Ala Glu Leu Asp Ser Tyr Gly Val Ser Asp Phe Tyr Lys Arg  
65 70 75 80

Leu Ile Asp Lys Ala Lys Thr Val Glu Gly Val Glu Ala Leu Lys Asp  
85 90 95

Ala Ile Leu Ala Ala Leu Pro  
100

<210> 12

<211> 57

5 <212> PRT

<213> SECUENCIA ARTIFICIAL

<220>

10 <223> Variante Z de unión C5 diseñada

<400> 12

Ala Glu Ala Lys Tyr Ala Lys Glu Val Leu Glu Ala Trp Asp Glu Ile  
1 5 10 15

Asp Arg Leu Pro Asn Leu Thr Ile Glu Gln Trp Leu Ala Phe Ile Asn  
20 25 30

Lys Leu Asp Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ser Glu Leu Leu Ser Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Ser Glu Ser Gln Ala Pro  
50 55

<210> 13

15 <211> 108

<212> PRT

<213> SECUENCIA ARTIFICIAL

<220>

20 <223> Variante Z de unión C5 diseñada

<400> 13



ES 2 742 505 T3

Ala Glu Ala Lys Tyr Ala Lys Glu Val Leu Glu Ala Trp Asp Glu Ile  
1 5 10 15

Asp Arg Leu Pro Asn Leu Thr Ile Glu Gln Trp Leu Ala Phe Ile Asn  
20 25 30

Lys Leu Asp Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ser Glu Leu Leu Ser Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Ser Glu Ser Gln Ala Pro Lys Val Glu Gly Ser Leu Ala  
50 55 60

Glu Ala Lys Glu Ala Ala Asn Ala Glu Leu Asp Ser Tyr Gly Val Ser  
65 70 75 80

Asp Phe Tyr Lys Arg Leu Ile Asp Lys Ala Lys Thr Val Glu Gly Val  
85 90 95

Glu Ala Leu Lys Asp Ala Ile Leu Ala Ala Leu Pro  
100 105

<210> 14  
<211> 108  
5 <212> PRT  
<213> SECUENCIA ARTIFICIAL

<220>  
10 <223> Variante Z de unión C5 diseñada

<400> 14  
Ala Glu Ala Lys Tyr Ala Lys Glu Val Leu Glu Ala Trp Asp Glu Ile  
1 5 10 15

Asp Arg Leu Pro Asn Leu Thr Ile Glu Gln Trp Leu Ala Phe Ile Asn  
20 25 30

Lys Leu Asp Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ser Glu Leu Leu Ser Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Ser Glu Ser Gln Ala Pro Lys Val Ala Gly Ser Leu Ala  
50 55 60

Glu Ala Lys Glu Ala Ala Asn Ala Glu Leu Asp Ser Tyr Gly Val Ser  
65 70 75 80

Asp Phe Tyr Lys Arg Leu Ile Asp Lys Ala Lys Thr Val Glu Gly Val  
85 90 95

Glu Ala Leu Lys Asp Ala Ile Leu Ala Ala Leu Pro  
100 105

<210> 15  
15 <211> 108  
<212> PRT  
<213> SECUENCIA ARTIFICIAL

<220>  
20 <223> Variante Z de unión C5 diseñada

ES 2 742 505 T3

<400> 15

Ala Glu Ala Lys Tyr Ala Lys Glu Val Leu Glu Ala Trp Asp Glu Ile  
1 5 10 15

Asp Arg Leu Pro Asn Leu Thr Ile Glu Gln Trp Leu Ala Phe Ile Asn  
20 25 30

Lys Leu Asp Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ser Glu Leu Leu Ser Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Glu Ser Ser Gln Ala Pro Lys Val Glu Gly Ser Leu Ala  
50 55 60  
Glu Ala Lys Glu Ala Ala Asn Ala Glu Leu Asp Ser Tyr Gly Val Ser  
65 70 75 80

Asp Phe Tyr Lys Arg Leu Ile Asp Lys Ala Lys Thr Val Glu Gly Val  
85 90 95

Glu Ala Leu Lys Asp Ala Ile Leu Ala Ala Leu Pro  
100 105

5

<210> 16

<211> 108

<212> PRT

<213> SECUENCIA ARTIFICIAL

10

<220>

<223> Variante Z de unión C5 diseñada

<400> 16

Ala Glu Ala Lys Tyr Ala Lys Glu Val Leu Glu Ala Trp Asp Glu Ile  
1 5 10 15

Asp Arg Leu Pro Asn Leu Thr Ile Glu Gln Trp Leu Ala Phe Ile Asn  
20 25 30

Lys Leu Asp Arg Gln Pro Glu Gln Ser Ser Glu Leu Leu Ser Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Ser Glu Ser Gln Ala Pro Lys Val Glu Gly Ser Leu Ala  
50 55 60

Glu Ala Lys Glu Ala Ala Asn Ala Glu Leu Asp Ser Tyr Gly Val Ser  
65 70 75 80

Asp Phe Tyr Lys Arg Leu Ile Asp Lys Ala Lys Thr Val Glu Gly Val  
85 90 95

15

Glu Ala Leu Lys Asp Ala Ile Leu Ala Ala Leu Pro  
100 105

<210> 17

<211> 57

<212> PRT

20

<213> SECUENCIA ARTIFICIAL

<220>

<223> Variante Z de unión C5 diseñada

ES 2 742 505 T3

<400> 17

Ala Glu Ala Lys Tyr Ala Lys Glu Val Leu Glu Ala Trp Asp Glu Ile  
 1 5 10 15  
 Asp Arg Leu Pro Asn Leu Thr Ile Glu Gln Trp Leu Ala Phe Ile Asn  
 20 25 30

Lys Leu Asp Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ser Glu Leu Leu Ser Glu Ala  
 35 40 45

Lys Lys Leu Glu Ser Ser Gln Ala Pro  
 50 55

5

<210> 18

<211> 57

<212> PRT

<213> SECUENCIA ARTIFICIAL

10

<220>

<223> Variante Z de unión C5 diseñada

<400> 18

Ala Glu Ala Lys Tyr Ala Lys Glu Val Leu Glu Ala Trp Asp Glu Ile  
 1 5 10 15

Asp Arg Leu Pro Asn Leu Thr Ile Glu Gln Trp Leu Ala Phe Ile Asn  
 20 25 30

Lys Leu Asp Arg Gln Pro Glu Gln Ser Ser Glu Leu Leu Ser Glu Ala  
 35 40 45

15

Lys Lys Leu Ser Glu Ser Gln Ala Pro  
 50 55

<210> 19

<211> 48

<212> PRT

<213> SECUENCIA ARTIFICIAL

20

<220>

<223> Variante Z de unión C5 diseñada

25

<400> 19

Glu Val Leu Glu Ala Trp Asp Glu Ile Asp Arg Leu Pro Asn Leu Thr  
 1 5 10 15

Ile Glu Gln Trp Leu Ala Phe Ile Asn Lys Leu Asp Asp Asp Pro Ser  
 20 25 30

Gln Ser Ser Glu Leu Leu Ser Glu Ala Lys Lys Leu Ser Glu Ser Gln  
 35 40 45

30

<210> 20

<211> 48

<212> PRT

<213> SECUENCIA ARTIFICIAL

<220>

<223> Variante Z de unión C5 diseñada

35

<400> 20

ES 2 742 505 T3

Glu Val Leu Glu Ala Trp Asp Glu Ile Asp Arg Leu Pro Asn Leu Thr  
 1 5 10 15

Ile Glu Gln Trp Leu Ala Phe Ile Asn Lys Leu Asp Asp Asp Pro Ser  
 20 25 30

Gln Ser Ser Glu Leu Leu Ser Glu Ala Lys Lys Leu Glu Ser Ser Gln  
 35 40 45

<210> 21  
 <211> 48  
 <212> PRT  
 <213> SECUENCIA ARTIFICIAL

5

<220>  
 <223> Variante Z de unión C5 diseñada

10

<400> 21  
 Glu Val Leu Glu Ala Trp Asp Glu Ile Asp Arg Leu Pro Asn Leu Thr  
 1 5 10 15

Ile Glu Gln Trp Leu Ala Phe Ile Asn Lys Leu Asp Arg Gln Pro Glu  
 20 25 30

Gln Ser Ser Glu Leu Leu Ser Glu Ala Lys Lys Leu Ser Glu Ser Gln  
 35 40 45

<210> 22  
 <211> 58  
 <212> PRT  
 <213> SECUENCIA ARTIFICIAL

15

<220>  
 <223> Variante Z de unión C5 diseñada

20

<400> 22  
 Ala Glu Ala Lys Tyr Ala Lys Glu Val Leu Glu Ala Trp Asp Glu Ile  
 1 5 10 15

Asp Arg Leu Pro Asn Leu Thr Ile Glu Gln Trp Leu Ala Phe Ile Asn  
 20 25 30

Lys Leu Asp Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ser Glu Leu Leu Ser Glu Ala  
 35 40 45

Lys Lys Leu Ser Glu Ser Gln Ala Pro Lys  
 50 55

25

<210> 23  
 <211> 108  
 <212> PRT  
 <213> SECUENCIA ARTIFICIAL

30

<220>  
 <223> Variante Z de unión C5 diseñada

<400> 23

ES 2 742 505 T3

Ala Glu Ala Lys Tyr Ala Lys Glu Val Leu Glu Ala Trp Asp Glu Ile  
1 5 10 15

Asp Arg Leu Pro Asn Leu Thr Ile Glu Gln Trp Leu Ala Phe Ile Asn  
20 25 30

Lys Leu Asp Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ser Glu Leu Leu Ser Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ser Gln Ala Pro Lys Val Glu Gly Ser Leu Ala  
50 55 60

Glu Ala Lys Glu Ala Ala Asn Ala Glu Leu Asp Ser Tyr Gly Val Ser  
65 70 75 80

Asp Phe Tyr Lys Arg Leu Ile Asp Lys Ala Lys Thr Val Glu Gly Val  
85 90 95

Glu Ala Leu Lys Asp Ala Ile Leu Ala Ala Leu Pro  
100 105

<210> 24  
<211> 108  
5 <212> PRT  
<213> SECUENCIA ARTIFICIAL

<220>  
10 <223> Variante Z de unión C5 diseñada

<400> 24  
Ala Glu Ala Lys Tyr Ala Lys Glu Val Leu Glu Ala Trp Asp Glu Ile  
1 5 10 15

Asp Arg Leu Pro Asn Leu Thr Ile Glu Gln Trp Leu Ala Phe Ile Asn  
20 25 30

Lys Leu Asp Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ser Glu Leu Leu Ser Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Glu Ser Gln Ala Pro Lys Val Glu Gly Ser Leu Ala  
50 55 60

Glu Ala Lys Glu Ala Ala Asn Ala Glu Leu Asp Ser Tyr Gly Val Ser  
65 70 75 80

Asp Phe Tyr Lys Arg Leu Ile Asp Lys Ala Lys Thr Val Glu Gly Val  
85 90 95

Glu Ala Leu Lys Asp Ala Ile Leu Ala Ala Leu Pro  
100 105

15 <210> 25  
<211> 108  
<212> PRT  
<213> SECUENCIA ARTIFICIAL

20 <220>  
<223> Variante Z de unión C5 diseñada

ES 2 742 505 T3

<400> 25

Ala Glu Ala Lys Tyr Ala Lys Glu Val Leu Glu Ala Trp Asp Glu Ile  
1 5 10 15

Asp Arg Leu Pro Asn Leu Thr Ile Glu Gln Trp Leu Ala Phe Ile Asn  
20 25 30

Lys Leu Asp Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ser Glu Leu Leu Ser Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Ser Asp Ser Gln Ala Pro Lys Val Glu Gly Ser Leu Ala  
50 55 60

Glu Ala Lys Glu Ala Ala Asn Ala Glu Leu Asp Ser Tyr Gly Val Ser  
65 70 75 80

Asp Phe Tyr Lys Arg Leu Ile Asp Lys Ala Lys Thr Val Glu Gly Val  
85 90 95

Glu Ala Leu Lys Asp Ala Ile Leu Ala Ala Leu Pro  
100 105

- 5 <210> 26
- <211> 62
- <212> PRT
- <213> SECUENCIA ARTIFICIAL

- 10 <220>
- <223> Engineered C5 binding Z variant

<400> 26

Ala Glu Ala Lys Tyr Ala Lys Glu Val Leu Glu Ala Trp Asp Glu Ile  
1 5 10 15

Asp Arg Leu Pro Asn Leu Thr Ile Glu Gln Trp Leu Ala Phe Ile Asn  
20 25 30

Lys Leu Asp Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ser Glu Leu Leu Ser Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ser Gln Ala Pro Lys Val Asp Gly Ser  
50 55 60

- 15 <210> 27
- <211> 58
- <212> PRT
- <213> SECUENCIA ARTIFICIAL

- 20 <220>
- <223> Variante Z de unión HER2 diseñada

<400> 27

ES 2 742 505 T3

Ala Glu Ala Lys Tyr Ala Lys Glu Met Arg Asn Ala Tyr Trp Glu Ile  
 1 5 10 15

Ala Leu Leu Pro Asn Leu Thr Asn Gln Gln Lys Arg Ala Phe Ile Arg  
 20 25 30

Lys Leu Tyr Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ser Glu Leu Leu Ser Glu Ala  
 35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ser Gln Ala Pro Lys  
 50 55

<210> 28

<211> 58

5 <212> PRT

<213> SECUENCIA ARTIFICIAL

<220>

<223> Variante Z de unión HER2 diseñada

10

<400> 28

Ala Glu Ala Lys Tyr Ala Lys Glu Met Arg Asn Ala Tyr Trp Glu Ile  
 1 5 10 15

Ala Leu Leu Pro Asn Leu Thr Asn Gln Gln Lys Arg Ala Phe Ile Arg  
 20 25 30

Lys Leu Tyr Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ser Glu Leu Leu Ser Glu Ala  
 35 40 45

Lys Lys Leu Ser Glu Ser Gln Ala Pro Lys  
 50 55

15 <210> 29

<211> 58

<212> PRT

<213> SECUENCIA ARTIFICIAL

20 <220>

<223> Variante Z de unión HER2 diseñada

<400> 29

Ala Glu Ala Lys Tyr Ala Lys Glu Met Arg Asn Ala Tyr Trp Glu Ile  
 1 5 10 15

Ala Leu Leu Pro Asn Leu Thr Asn Gln Gln Lys Arg Ala Phe Ile Arg  
 20 25 30

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

Lys Lys Leu Ser Glu Ser Gln Ala Pro Lys  
 50 55

25 <210> 30

<211> 58

<212> PRT

<213> SECUENCIA ARTIFICIAL

30 <220>

<223> Variante Z de ingeniería PDGFRbeta vinculante

ES 2 742 505 T3

<400> 30

Ala Glu Ala Lys Tyr Ala Lys Glu Leu Ile Glu Ala Ala Ala Glu Ile  
1 5 10 15

Asp Ala Leu Pro Asn Leu Thr Arg Arg Gln Trp Asn Ala Phe Ile Lys  
20 25 30

Lys Leu Val Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ser Glu Leu Leu Ser Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ser Gln Ala Pro Lys  
50 55

<210> 31

5 <211> 58

<212> PRT

<213> SECUENCIA ARTIFICIAL

<220>

10 <223> Variante Z de ingeniería PDGFRbeta vinculante

<400> 31

Ala Glu Ala Lys Tyr Ala Lys Glu Leu Ile Glu Ala Ala Ala Glu Ile  
1 5 10 15

Asp Ala Leu Pro Asn Leu Thr Arg Arg Gln Trp Asn Ala Phe Ile Lys  
20 25 30

Lys Leu Val Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ser Glu Leu Leu Ser Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Ser Glu Ser Gln Ala Pro Lys  
50 55

15 <210> 32

<211> 58

<212> PRT

<213> SECUENCIA ARTIFICIAL

20 <220>

<223> Variante Z de ingeniería PDGFRbeta vinculante

<400> 32

Ala Glu Ala Lys Tyr Ala Lys Glu Leu Ile Glu Ala Ala Ala Glu Ile  
1 5 10 15

Asp Ala Leu Pro Asn Leu Thr Arg Arg Gln Trp Asn Ala Phe Ile Lys  
20 25 30

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

Lys Lys Leu Ser Glu Ser Gln Ala Pro Lys  
50 55

25 <210> 33

<211> 58

<212> PRT

<213> SECUENCIA ARTIFICIAL

30 <220>



ES 2 742 505 T3

<223> Variante Z de unión de FcRn diseñada

<400> 33

Ala Glu Ala Lys Tyr Ala Lys Glu Gln Asp Ala Ala Ala His Glu Ile  
 1 5 10 15  
 Arg Trp Leu Pro Asn Leu Thr Phe Asp Gln Arg Val Ala Phe Ile His  
 20 25 30

Lys Leu Ala Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ser Glu Leu Leu Ser Glu Ala  
 35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ser Gln Ala Pro Lys  
 50 55

5

<210> 34

<211> 58

<212> PRT

10 <213> SECUENCIA ARTIFICIAL

<220>

<223> Variante Z de unión de FcRn diseñada

15 <400> 34

Ala Glu Ala Lys Tyr Ala Lys Glu Gln Asp Ala Ala Ala His Glu Ile  
 1 5 10 15

Arg Trp Leu Pro Asn Leu Thr Phe Asp Gln Arg Val Ala Phe Ile His  
 20 25 30

Lys Leu Ala Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ser Glu Leu Leu Ser Glu Ala  
 35 40 45

Lys Lys Leu Ser Glu Ser Gln Ala Pro Lys  
 50 55

<210> 35

<211> 58

<212> PRT

20 <213> SECUENCIA ARTIFICIAL

<220>

<223> Variante Z de unión de FcRn diseñada

25 <400> 35

Ala Glu Ala Lys Tyr Ala Lys Glu Gln Asp Ala Ala Ala His Glu Ile  
 1 5 10 15

Arg Trp Leu Pro Asn Leu Thr Phe Asp Gln Arg Val Ala Phe Ile His  
 20 25 30

Lys Leu Ala Arg Gln Pro Glu Gln Ser Ser Glu Leu Leu Ser Glu Ala  
 35 40 45

Lys Lys Leu Ser Glu Ser Gln Ala Pro Lys  
 50 55

<210> 36

<211> 58

<212> PRT

30 <213> SECUENCIA ARTIFICIAL

ES 2 742 505 T3

<220>

<223> Variante Z de unión CAIX diseñada

<400> 36

Ala Glu Ala Lys Tyr Ala Lys Glu Asn Leu Phe Ala Gly Trp Glu Ile  
1 5 10 15

Ser Asp Leu Pro Asn Leu Thr Asp Tyr Gln Arg Asn Ala Phe Ile Tyr  
20 25 30

Lys Leu Trp Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ser Glu Leu Leu Ser Glu Ala  
35 40 45

5 Lys Lys Leu Asn Asp Ser Gln Ala Pro Lys  
50 55

<210> 37

<211> 58

<212> PRT

10 <213> SECUENCIA ARTIFICIAL

<220>

<223> Variante Z de unión CAIX diseñada

15 <400> 37

Ala Glu Ala Lys Tyr Ala Lys Glu Asn Leu Phe Ala Gly Trp Glu Ile  
1 5 10 15

Ser Asp Leu Pro Asn Leu Thr Asp Tyr Gln Arg Asn Ala Phe Ile Tyr  
20 25 30

Lys Leu Trp Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ser Glu Leu Leu Ser Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Ser Glu Ser Gln Ala Pro Lys  
50 55

<210> 38

<211> 58

<212> PRT

20 <213> SECUENCIA ARTIFICIAL

<220>

<223> Variante Z de unión CAIX diseñada

25 <400> 38

Ala Glu Ala Lys Tyr Ala Lys Glu Asn Leu Phe Ala Gly Trp Glu Ile  
1 5 10 15

Ser Asp Leu Pro Asn Leu Thr Asp Tyr Gln Arg Asn Ala Phe Ile Tyr  
20 25 30

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

Lys Lys Leu Ser Glu Ser Gln Ala Pro Lys  
50 55

<210> 39

<211> 58

<212> PRT

30

<213> SECUENCIA ARTIFICIAL

<220>

<223> Variante Z de unión CAIX diseñada

5

<400> 39

Ala Glu Ala Lys Tyr Ala Lys Glu Asn Leu Phe Ala Gly Trp Glu Ile  
1 5 10 15

Ser Asp Leu Pro Asn Leu Thr Asp Tyr Gln Arg Asn Ala Phe Ile Tyr  
20 25 30

Lys Leu Trp Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ser Glu Leu Leu Ser Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Glu Ser Gln Ala Pro Lys  
50 55

<210> 40

10 <211> 58

<212> PRT

<213> SECUENCIA ARTIFICIAL

<220>

15 <223> Variante Z de unión CAIX diseñada

<400> 40

Ala Glu Ala Lys Tyr Ala Lys Glu Asn Leu Phe Ala Gly Trp Glu Ile  
1 5 10 15

Ser Asp Leu Pro Asn Leu Thr Asp Tyr Gln Arg Asn Ala Phe Ile Tyr  
20 25 30

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

Lys Lys Leu Asn Glu Ser Gln Ala Pro Lys  
50 55

20

<210> 41

<211> 58

<212> PRT

<213> SECUENCIA ARTIFICIAL

<220>

25 <223> Variante Z de unión CAIX diseñada

<400> 41

Ala Glu Ala Lys Tyr Ala Lys Glu Asn Leu Phe Ala Gly Trp Glu Ile  
1 5 10 15

Ser Asp Leu Pro Asn Leu Thr Asp Tyr Gln Arg Asn Ala Phe Ile Tyr  
20 25 30

Lys Leu Trp Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ser Glu Leu Leu Ser Glu Ala  
35 40 45

30

Lys Lys Leu Ser Asp Ser Gln Ala Pro Lys  
50 55

<210> 42

<211> 58

ES 2 742 505 T3

<212> PRT  
 <213> SECUENCIA ARTIFICIAL

<220>  
 5 <223> Variante Z de unión CAIX diseñada

<400> 42  
 Ala Glu Ala Lys Tyr Ala Lys Glu Asn Leu Phe Ala Gly Trp Glu Ile  
 1 5 10 15  
 Ser Asp Leu Pro Asn Leu Thr Asp Tyr Gln Arg Asn Ala Phe Ile Tyr  
 20 25 30  
 Lys Leu Trp Arg Gln Pro Glu Gln Ser Ser Glu Leu Leu Ser Glu Ala  
 35 40 45  
 Lys Lys Leu Ser Asp Ser Gln Ala Pro Lys  
 50 55

10 <210> 43  
 <211> 48  
 <212> PRT  
 <213> SECUENCIA ARTIFICIAL

15 <220>  
 <223> Variante Z de unión HER2 diseñada

<400> 43  
 Glu Met Arg Asn Ala Tyr Trp Glu Ile Ala Leu Leu Pro Asn Leu Thr  
 1 5 10 15  
 Asn Gln Gln Lys Arg Ala Phe Ile Arg Lys Leu Tyr Asp Asp Pro Ser  
 20 25 30  
 Gln Ser Ser Glu Leu Leu Ser Glu Ala Lys Lys Leu Ser Glu Ser Gln  
 35 40 45

20 <210> 44  
 <211> 48  
 <212> PRT  
 <213> SECUENCIA ARTIFICIAL

25 <220>  
 <223> Variante Z de unión HER2 diseñada

<400> 44  
 Glu Met Arg Asn Ala Tyr Trp Glu Ile Ala Leu Leu Pro Asn Leu Thr  
 1 5 10 15  
 Asn Gln Gln Lys Arg Ala Phe Ile Arg Lys Leu Tyr Arg Gln Pro Glu  
 20 25 30

30 Gln Ser Ser Glu Leu Leu Ser Glu Ala Lys Lys Leu Ser Glu Ser Gln  
 35 40 45

<210> 45  
 <211> 48  
 <212> PRT  
 35 <213> SECUENCIA ARTIFICIAL

<220>

ES 2 742 505 T3

<223> Variante Z de ingeniería PDGFRbeta vinculante

<400> 45

Glu Leu Ile Glu Ala Ala Ala Glu Ile Asp Ala Leu Pro Asn Leu Thr  
1 5 10 15

Arg Arg Gln Trp Asn Ala Phe Ile Lys Lys Leu Val Asp Asp Pro Ser  
20 25 30

Gln Ser Ser Glu Leu Leu Ser Glu Ala Lys Lys Leu Ser Glu Ser Gln  
35 40 45

5

<210> 46

<211> 48

<212> PRT

<213> SECUENCIA ARTIFICIAL

10

<220>

<223> Variante Z de ingeniería PDGFRbeta vinculante

<400> 46

Glu Leu Ile Glu Ala Ala Ala Glu Ile Asp Ala Leu Pro Asn Leu Thr  
1 5 10 15

Arg Arg Gln Trp Asn Ala Phe Ile Lys Lys Leu Val Arg Gln Pro Glu  
20 25 30

Gln Ser Ser Glu Leu Leu Ser Glu Ala Lys Lys Leu Ser Glu Ser Gln  
35 40 45

15

<210> 47

<211> 48

<212> PRT

<213> SECUENCIA ARTIFICIAL

20

<220>

<223> Variante Z de unión de FcRn diseñada

25

<400> 47

Glu Gln Asp Ala Ala Ala His Glu Ile Arg Trp Leu Pro Asn Leu Thr  
1 5 10 15

Phe Asp Gln Arg Val Ala Phe Ile His Lys Leu Ala Asp Asp Pro Ser  
20 25 30

Gln Ser Ser Glu Leu Leu Ser Glu Ala Lys Lys Leu Ser Glu Ser Gln  
35 40 45

<210> 48

<211> 48

<212> PRT

<213> SECUENCIA ARTIFICIAL

30

<220>

<223> Variante Z de unión de FcRn diseñada

35

<400> 48

ES 2 742 505 T3

Glu Gln Asp Ala Ala Ala His Glu Ile Arg Trp Leu Pro Asn Leu Thr  
 1 5 10 15

Phe Asp Gln Arg Val Ala Phe Ile His Lys Leu Ala Arg Gln Pro Glu  
 20 25 30

Gln Ser Ser Glu Leu Leu Ser Glu Ala Lys Lys Leu Ser Glu Ser Gln  
 35 40 45

<210> 49  
 <211> 48  
 5 <212> PRT  
 <213> SECUENCIA ARTIFICIAL

<220>  
 <223> Variante Z de unión CAIX diseñada

10 <400> 49  
 Glu Asn Leu Phe Ala Gly Trp Glu Ile Ser Asp Leu Pro Asn Leu Thr  
 1 5 10 15

Asp Tyr Gln Arg Asn Ala Phe Ile Tyr Lys Leu Trp Asp Asp Pro Ser  
 20 25 30

Gln Ser Ser Glu Leu Leu Ser Glu Ala Lys Lys Leu Ser Glu Ser Gln  
 35 40 45

15 <210> 50  
 <211> 48  
 <212> PRT  
 <213> SECUENCIA ARTIFICIAL

20 <220>  
 <223> Variante Z de unión CAIX diseñada

<400> 50  
 Glu Asn Leu Phe Ala Gly Trp Glu Ile Ser Asp Leu Pro Asn Leu Thr  
 1 5 10 15

Asp Tyr Gln Arg Asn Ala Phe Ile Tyr Lys Leu Trp Arg Gln Pro Glu  
 20 25 30

Gln Ser Ser Glu Leu Leu Ser Glu Ala Lys Lys Leu Ser Glu Ser Gln  
 35 40 45

25 <210> 51  
 <211> 48  
 <212> PRT  
 <213> SECUENCIA ARTIFICIAL

30 <220>  
 <223> Variante Z de unión CAIX diseñada

<400> 51  
 Glu Asn Leu Phe Ala Gly Trp Glu Ile Ser Asp Leu Pro Asn Leu Thr  
 1 5 10 15

Asp Tyr Gln Arg Asn Ala Phe Ile Tyr Lys Leu Trp Asp Asp Pro Ser  
 20 25 30

35 Gln Ser Ser Glu Leu Leu Ser Glu Ala Lys Lys Leu Asn Glu Ser Gln  
 35 40 45

ES 2 742 505 T3

<210> 52  
 <211> 48  
 <212> PRT  
 <213> SECUENCIA ARTIFICIAL  
 5  
 <220>  
 <223> Variante Z de unión CAIX diseñada  
  
 <400> 52  
 Glu Asn Leu Phe Ala Gly Trp Glu Ile Ser Asp Leu Pro Asn Leu Thr  
 1 5 10 15  
  
 Asp Tyr Gln Arg Asn Ala Phe Ile Tyr Lys Leu Trp Arg Gln Pro Glu  
 20 25 30  
  
 Gln Ser Ser Glu Leu Leu Ser Glu Ala Lys Lys Leu Asn Glu Ser Gln  
 10 35 40 45  
  
 <210> 53  
 <211> 48  
 <212> PRT  
 15 <213> SECUENCIA ARTIFICIAL  
  
 <220>  
 <223> Variante Z de unión CAIX diseñada  
  
 20 <400> 53  
 Glu Asn Leu Phe Ala Gly Trp Glu Ile Ser Asp Leu Pro Asn Leu Thr  
 1 5 10 15  
  
 Asp Tyr Gln Arg Asn Ala Phe Ile Tyr Lys Leu Trp Asp Asp Pro Ser  
 20 25 30  
  
 Gln Ser Ser Glu Leu Leu Ser Glu Ala Lys Lys Leu Ser Asp Ser Gln  
 35 40 45  
  
 <210> 54  
 <211> 48  
 25 <212> PRT  
 <213> SECUENCIA ARTIFICIAL  
  
 <220>  
 <223> Variante Z de unión CAIX diseñada  
  
 30 <400> 54  
 Glu Asn Leu Phe Ala Gly Trp Glu Ile Ser Asp Leu Pro Asn Leu Thr  
 1 5 10 15  
  
 Asp Tyr Gln Arg Asn Ala Phe Ile Tyr Lys Leu Trp Arg Gln Pro Glu  
 20 25 30  
  
 Gln Ser Ser Glu Leu Leu Ser Glu Ala Lys Lys Leu Ser Asp Ser Gln  
 35 40 45

**REIVINDICACIONES**

1. Polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre:

i)  $EX_2X_3X_4AX_6X_7EIX_{10} X_{11}LPNLX_{16}X_{17}X_{18}QX_{20} X_{21}AFIX_{25}X_{26}LX_{28}X_{29}X_{30}$   
 $PX_{32}QSX_{35}X_{36}LLX_{39}E AKKLX_{45}X_{46}X_{47}Q$ ;

5 en donde cada uno de  $X_2, X_3, X_4, X_6, X_7, X_{10}, X_{11}, X_{17}, X_{18}, X_{20}, X_{21}, X_{25}$  y  $X_{28}$  es independientemente cualquier resto de aminoácido; y

en donde, independientemente entre ellos,

$X_{16}$  se selecciona entre N y T;

$X_{26}$  se selecciona entre K y S;

10  $X_{29}X_{30}PX_{32}$  se selecciona entre DDPS y RQPE;

$X_{35}$  se selecciona entre A y S;

$X_{36}$  se selecciona entre E y N;

$X_{39}$  se selecciona entre A, C y S;

$X_{45}$  se selecciona entre E y S;

15  $X_{46}$  se selecciona entre D, E y S;

$X_{47}$  se selecciona entre A y S; y

ii) una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 91% de identidad con la secuencia definida en i), siempre y cuando  $X_{46}$  no sea D o E cuando  $X_{45}$  es N.

2. Polipéptido según la reivindicación 1ª, en donde  $X_{45}$  es S.

20 3. Polipéptido según la reivindicación 1 o 2, en donde  $X_{45}X_{46}$  se elige entre ES y SE.

4. Polipéptido según una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, que comprende una secuencia de aminoácidos elegida entre:

YAK  $EX_2X_3X_4AX_6X_7EIX_{10} X_{11}LPNLX_{16}X_{17}X_{18}QX_{20} X_{21}AFIX_{25}X_{26}LX_{28}X_{29}X_{30}$   
 $PX_{32}QSX_{35}X_{36}LLX_{39}E AKKLX_{45}X_{46}X_{47}Q$  AP; y

25 FNK  $EX_2X_3X_4AX_6X_7EIX_{10} X_{11}LPNLX_{16}X_{17}X_{18}QX_{20} X_{21}AFIX_{25}X_{26}LX_{28}X_{29}X_{30}$

$PX_{32}QSX_{35}X_{36}LLX_{39}E AKKLX_{45}X_{46}X_{47}Q$  AP,

en donde cada  $X_y$  es como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en donde y denota la posición de aminoácido del resto X dentro de la secuencia de polipéptidos definida por i).

5. Polipéptido de fusión que comprende un polipéptido según una cualquiera de las reivindicaciones 1-4 como resto.

30 6. Polinucleótido que codifica un polipéptido o polipéptido de fusión según una cualquiera de las reivindicaciones 1-5.

7. Población de variantes de polipéptido basada en un andamiaje común, comprendiendo cada polipéptido de la población una secuencia de aminoácidos elegida entre:

i)  $EX_2X_3X_4AX_6X_7EIX_{10} X_{11}LPNLX_{16}X_{17}X_{18}QX_{20} X_{21}AFIX_{25}X_{26}LX_{28}X_{29}X_{30}$   
 $PX_{32}QSX_{35}X_{36}LLX_{39}E AKKLX_{45}X_{46}X_{47}Q$ ;

35 en donde cada uno de  $X_2, X_3, X_4, X_6, X_7, X_{10}, X_{11}, X_{17}, X_{18}, X_{20}, X_{21}, X_{25}$  y  $X_{28}$  es independientemente cualquier resto de aminoácido; y

en donde, independientemente entre ellos,

$X_{16}$  se selecciona entre N y T;

$X_{26}$  se selecciona entre K y S;



$X_{29}X_{30}PX_{32}$  se selecciona entre DDPS y RQPE;

$X_{35}$  se selecciona entre A y S;

$X_{36}$  se selecciona entre E y N;

$X_{39}$  se selecciona entre A, C y S;

5  $X_{45}$  se selecciona entre E y S;

$X_{46}$  se selecciona entre D, E y S;

$X_{47}$  se selecciona entre A y S; y

- ii) una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 91% de identidad con la secuencia definida en i), siempre y cuando  $X_{46}$  no sea D o E cuando  $X_{45}$  es N.

10 8. Población según la reivindicación 7, que comprende al menos  $1 \times 10^4$  moléculas de polipéptidos únicas.

9. Población de polinucleótidos, caracterizada porque cada miembro de la misma codifica un miembro de una población de polipéptidos según la reivindicación 7-8.

15 10. Combinación de una población de polipéptidos según una cualquiera de las reivindicaciones 7-8 con una población de polinucleótidos según la reivindicación 9, en donde cada miembro de dicha población de polipéptidos está asociado física o espacialmente con el polinucleótido que codifica ese miembro a través de medios para el acoplamiento genotipo-fenotipo.

11. Combinación según la reivindicación 10, en donde dichos medios para el acoplamiento de genotipo-fenotipo comprenden un sistema de presentación de fago.

20 12. Método para seleccionar un polipéptido deseado que tiene una afinidad para una diana predeterminada de una población de polipéptidos, que comprende las etapas de:

(a) proporcionar una población de polipéptidos según una cualquiera de las reivindicaciones 7-8;

(b) poner en contacto la población de polipéptidos con la diana predeterminada bajo condiciones que permiten la interacción específica entre la diana y al menos un polipéptido deseado que tiene una afinidad para la diana; y

25 (c) seleccionar sobre la base de dicha interacción específica, el al menos un polipéptido deseado de la población de polipéptidos restantes.

13. Método para aislar un polinucleótido que codifica un polipéptido deseado que tiene una afinidad para una diana predeterminada, que comprende las etapas de:

- seleccionar dicho polipéptido deseado y el polinucleótido que lo codifica entre una población de polipéptidos usando el método según la reivindicación 12; y

30 - aislar el polinucleótido así separado que codifica el polipéptido deseado.

14. Método para identificar un polipéptido deseado que tiene afinidad para una diana predeterminada, que comprende las etapas:

- aislar un polinucleótido que codifica dicho polipéptido deseado usando el método según la reivindicación 13; y

35 - secuenciar el polinucleótido para establecer por deducción la secuencia de aminoácidos de dicho polipéptido deseado.

15. Método para seleccionar e identificar un polipéptido deseado que tiene una afinidad para una diana predeterminada entre una población de polipéptidos, que comprende las etapas de:

(a) sintetizar cada miembro de una población de polipéptidos según una cualquiera de las reivindicaciones 7-8 en un vehículo o esfera separado;

40 (b) seleccionar o enriquecer los vehículos o esferas basados en la interacción del polipéptido con la diana predeterminada; y

(c) identificar el polipéptido mediante metodología de caracterización de proteínas.

Designación	Secuencia de aminoácidos	SEQ ID NO:
PSI0242	AEAKYAKEVLEAWDEIDRLPNLTIEQWLAFINKLDDDDPSQSSELLSEAKKLNDSQAPKVDGSLAEAKEAANAELDSYGVSDFYK RLIDKAKTVEGVEALKDAILAALP	1
ABD	LAEAKEAANAELDSYGVSDFYKRLIDKAKTVEGVEALKDAILAALP	2
Human C5	MGLLGLICFLIFLGKTIWQEQTYVTSAPKIFRVSASENIVIQVYGEAFDATISIKSYPDKKFSSYSGHVLHSSENKRFQ NSAILTIQPKQLPGGQNPVSYVLEVVSKHFSKSRMPITYDNGFLFIHTDKPVYTPDQSVKRVVYSLNDDDLKPAKRETV LTFIDPEGSEVMVEEIDHIGIISFPDFKIPSNRPRYGMWTIKAKYKEDFSTGTAYFEVKEYVLPHEFSVSEIEPEYNFYIGY KNFKNFEITIKARYFNKVVTEADVYITFGIRELDDQKEMQTAQNTMLINGIAQVTFDSETAVKELSYSSLEDLNN KYLIAVTVIESTGGFSEAEIPGIKYVLSPYKLNLVATPLFLKPGIPYPIKVVQKDSLQDLVGGVPTLNAQTIDVNMQE TSDLDPSKSVTRVDDGVAFLNLPSTVLEFNVKTDAPDLPEEQAREGYRAIAYSSLSQSYLYIDWTDNHHKALLVGE HLNIIIVTPKSPYIDKITHYNYLILSKGKI IHFGTREKFSASYQSIPIVTONMPSRLLVYIIVTGEQTAELVSDSVW LNIEKCGNLQVHLSPDADAYSFGQTVSLNMATGMSWLAADVSAVYGVQGAKKPLERVFQFLEKSDLGGCAGGGL NNANVHLAGLTLFLTNANADDSQENDEPCKEILRPRTLQKKIEETAAYKHVVQKCCYDGACVNNDETCEQARAISL GPRCIKAFTCECCVVASQLRANISHKMQGLRHMKTLLPVSKPEIRSYFPESLWELVPRKQLQFALPDSLTTWEIQ GVGISNTGICVADTVKAKVFDVLENNIPYSVVRGEIQLKGTVYNYRTSGMQFCVKMSAVEGICSESPVIDHQGTKS SKCVRQKVEGSSSHLVFTVLPLELGLHNINFSLETFWGEKILVKTILRVVPEGVKREYSVGTLDPRGIYGTISRRKEFP YRIPLDLVPKTEIKRILSVKGLLVEILSAVLSQEGINILTHLPKSAEAEELMSVVPVYVVFHYLETGNNHNI FHSDDL EKQKLLKKEGMLSIMSYRNADYSVWKGGASWLTAFALRVLQVKNKYVEQMSICNSLLWLVENYQLDNGSFKK NSYQPIKLGTLPEARENSLYLTAFTVIGIRKAFDIPCPLVKIDTALIKADNFLENTLPAQSTFTLAI SAYALSGLDK THQFRSIVSALKREALVKGWPPYRFBKDNLQHKDSSVPNTGTARVETAYALLTSLNLIKDINYVNPVIKWLSEEQRY GGGFYSTQDTINAEGLTEYSLLVKQLRLSMDIDVSYKHKGALHNYKMTDNFLGRVPEVLLNDDLI VSTGFGSGLATVH VTTVHKTSTSEEVCSFYLIKIDTQDIEASHYRGYNSDYKRIVACASYKPSREESSGSSHAVMDISLPTGISANEEDLK ALVEGVQDLFTDYQIKDGHVILQNSIPSSDFLCVRFRI FELFEVGLSPATFTVYEHYRHPDKQCTMFTSNIKIQKVC EGRACKVEADCGQMQEELDTISAEATRQKTACKPIAYAYKVSITSTIVENVFKYKATLLDIYKTGEAVAEKDSEIF IKKVTCNAELVKGQYLIIMGKEALQIKYNFSFRITYPLDSLTIWYWPRTTCCSSCQAFLANLDEFDAEDIFLNGC	3
PSI0332	AEAKYAKEVLEAWDEIDRLPNLTIEQWLAFINKLDRQPEQSSELLSEAKKLNDSQAPKVDGSLAEAKEAANAELDSYGVSDFYK RLIDKAKTVEGVEALKDAILAALP	4
PSI0334	AEAKYAKEVLEAWDEIDRLPNLTIEQWLAFINKLDDDDPSQSSELLSEAKKLSAQAPKVDGSLAEAKEAANAELDSYGVSDFYK RLIDKAKTVEGVEALKDAILAALP	5
PSI0335	AEAKYAKEVLEAWDEIDRLPNLTIEQWLAFINKLDDDDPSQSSELLSEAKKLNDSQAPKVDGSLAEAKVLANRELDKYGVSDFYK RLINKAKTVEGVEALKHILAALP	6
PSI0336	AEAKYAKEVLEAWSEIDRLPNLTIEQWLAFINKLDDDDPSQSSELLSEAKKLNDSQAPKVDGSLAEAKEAANAELDSYGVSDFYK RLIDKAKTVEGVEALKDAILAALP	7
PSI0337	AEAKYAKEVLEAWDEIERLPNLTIEQWLAFINKLDDDDPSQSSELLSEAKKLNDSQAPKVDGSLAEAKEAANAELDSYGVSDFYK RLIDKAKTVEGVEALKDAILAALP	8

Figura 1A

Designación	Secuencia de aminoácidos	SEC ID No.
PSI0339	AEAKYAKEVLEAWDEIDRLPNLTIEQWLAFTAKLDDPSQSSELLSEAKKLNDSPQPKVDGSLAEAKEAANAELDSYGVSDFYK RLIDKAKTVEGVEALKDAILAALP	9
PSI0340	AEAKYAKEVLEAWDEIDRLPNLTIEQWLAFTAKLDDPSQSSELLSEAKKLNDSPQPKVDGSLAEAKEAANAELDSYGVSDFYK RLIDKAKTVEGVEALKDAILAALP	10
PSI0369	AEAKYAKEVLEAWDEIDRLPNLTIEQWLAFTAKLDDPSQSSELLSEAKKLNDSPQPKVDGSLAEAKEAANAELDSYGVSDFYKRLIDK AKTVEGVEALKDAILAALP	11
PSI0377	AEAKYAKEVLEAWDEIDRLPNLTIEQWLAFTAKLDDPSQSSELLSEAKKLNDSPQPKVDGSLAEAKEAANAELDSYGVSDFYK RLIDKAKTVEGVEALKDAILAALP	12
PSI0378	AEAKYAKEVLEAWDEIDRLPNLTIEQWLAFTAKLDDPSQSSELLSEAKKLNDSPQPKVDGSLAEAKEAANAELDSYGVSDFYK RLIDKAKTVEGVEALKDAILAALP	13
PSI0379	AEAKYAKEVLEAWDEIDRLPNLTIEQWLAFTAKLDDPSQSSELLSEAKKLNDSPQPKVDGSLAEAKEAANAELDSYGVSDFYK RLIDKAKTVEGVEALKDAILAALP	14
PSI0381	AEAKYAKEVLEAWDEIDRLPNLTIEQWLAFTAKLDDPSQSSELLSEAKKLNDSPQPKVDGSLAEAKEAANAELDSYGVSDFYK RLIDKAKTVEGVEALKDAILAALP	15
PSI0383	AEAKYAKEVLEAWDEIDRLPNLTIEQWLAFTAKLDDPSQSSELLSEAKKLNDSPQPKVDGSLAEAKEAANAELDSYGVSDFYK RLIDKAKTVEGVEALKDAILAALP	16
PSI0389	AEAKYAKEVLEAWDEIDRLPNLTIEQWLAFTAKLDDPSQSSELLSEAKKLNDSPQPKVDGSLAEAKEAANAELDSYGVSDFYK RLIDKAKTVEGVEALKDAILAALP	17
PSI0390	AEAKYAKEVLEAWDEIDRLPNLTIEQWLAFTAKLDDPSQSSELLSEAKKLNDSPQPKVDGSLAEAKEAANAELDSYGVSDFYK RLIDKAKTVEGVEALKDAILAALP	18
PSI0377 PP	EVLEAWDEIDRLPNLTIEQWLAFTAKLDDPSQSSELLSEAKKLNDSPQPKVDGSLAEAKEAANAELDSYGVSDFYK	19
PSI0389 PP	EVLEAWDEIDRLPNLTIEQWLAFTAKLDDPSQSSELLSEAKKLNDSPQPKVDGSLAEAKEAANAELDSYGVSDFYK	20
PSI0390 PP	EVLEAWDEIDRLPNLTIEQWLAFTAKLDDPSQSSELLSEAKKLNDSPQPKVDGSLAEAKEAANAELDSYGVSDFYK	21
PSI0400	AEAKYAKEVLEAWDEIDRLPNLTIEQWLAFTAKLDDPSQSSELLSEAKKLNDSPQPKVDGSLAEAKEAANAELDSYGVSDFYK RLIDKAKTVEGVEALKDAILAALP	22
PSI0410	AEAKYAKEVLEAWDEIDRLPNLTIEQWLAFTAKLDDPSQSSELLSEAKKLNDSPQPKVDGSLAEAKEAANAELDSYGVSDFYK RLIDKAKTVEGVEALKDAILAALP	23
PSI0403	AEAKYAKEVLEAWDEIDRLPNLTIEQWLAFTAKLDDPSQSSELLSEAKKLNDSPQPKVDGSLAEAKEAANAELDSYGVSDFYK RLIDKAKTVEGVEALKDAILAALP	24
PSI0404	AEAKYAKEVLEAWDEIDRLPNLTIEQWLAFTAKLDDPSQSSELLSEAKKLNDSPQPKVDGSLAEAKEAANAELDSYGVSDFYK RLIDKAKTVEGVEALKDAILAALP	25
PSI0257	AEAKYAKEVLEAWDEIDRLPNLTIEQWLAFTAKLDDPSQSSELLSEAKKLNDSPQPKVDGSLAEAKEAANAELDSYGVSDFYK RLIDKAKTVEGVEALKDAILAALP	26
Z02891	AEAKYAKEMRNAYWEIALLPNLTNQOKRAFIRKLYDDPSQSSELLSEAKKLNDSPQPKVDGSLAEAKEAANAELDSYGVSDFYK	27
Z17341	AEAKYAKEMRNAYWEIALLPNLTNQOKRAFIRKLYDDPSQSSELLSEAKKLNDSPQPKVDGSLAEAKEAANAELDSYGVSDFYK	28
Z17342	AEAKYAKEMRNAYWEIALLPNLTNQOKRAFIRKLYDDPSQSSELLSEAKKLNDSPQPKVDGSLAEAKEAANAELDSYGVSDFYK	29
Z15805	AEAKYAKELIEAAAEIDALPNLTRQWNAFTIKKLYDDPSQSSELLSEAKKLNDSPQPKVDGSLAEAKEAANAELDSYGVSDFYK	30
Z17343	AEAKYAKELIEAAAEIDALPNLTRQWNAFTIKKLYDDPSQSSELLSEAKKLNDSPQPKVDGSLAEAKEAANAELDSYGVSDFYK	31

Figura 1B

Designación	Secuencia de aminoácidos	SEC ID No.
Z17344	AEKYAKELIEAAAEIDALPNLTRRQWNAFIKLVLRQPEQSSELLSEAKKLSQAPK	32
Z10103	AEKYAKEQDAAAHEIRWLPNLTDFQVAFIHKLADDPQSSELLSEAKKLNDSQAPK	33
Z17347	AEKYAKEQDAAAHEIRWLPNLTDFQVAFIHKLADDPQSSELLSEAKKLSQAPK	34
Z17348	AEKYAKEQDAAAHEIRWLPNLTDFQVAFIHKLARQPEQSSELLSEAKKLSQAPK	35
Z09782	AEKYAKENLFAGWEISDLPNLTDYQRNAFIYKLVWDDPQSSELLSEAKKLNDSQAPK	36
Z17351	AEKYAKENLFAGWEISDLPNLTDYQRNAFIYKLVWDDPQSSELLSEAKKLSQAPK	37
Z17352	AEKYAKENLFAGWEISDLPNLTDYQRNAFIYKLVWDDPQSSELLSEAKKLSQAPK	38
Z17355	AEKYAKENLFAGWEISDLPNLTDYQRNAFIYKLVWDDPQSSELLSEAKKLNESQAPK	39
Z17357	AEKYAKENLFAGWEISDLPNLTDYQRNAFIYKLVWDDPQSSELLSEAKKLSQAPK	40
Z17359	AEKYAKENLFAGWEISDLPNLTDYQRNAFIYKLVWDDPQSSELLSEAKKLSDSQAPK	41
Z17360	AEKYAKENLFAGWEISDLPNLTDYQRNAFIYKLVWDDPQSSELLSEAKKLSDSQAPK	42
Z17341 PP	EMRNAYWEIALLPNLTNQKRAFIRKLVYDDPQSSELLSEAKKLSQ	43
Z17342 PP	EMRNAYWEIALLPNLTNQKRAFIRKLVYRQPEQSSELLSEAKKLSQ	44
Z17343 PP	ELIEAAAEIDALPNLTRRQWNAFIKLVYDDPQSSELLSEAKKLSQ	45
Z17344 PP	ELIEAAAEIDALPNLTRRQWNAFIKLVYRQPEQSSELLSEAKKLSQ	46
Z17347 PP	EQDAAAHEIRWLPNLTDFQVAFIHKLADDPQSSELLSEAKKLSQ	47
Z17348 PP	EQDAAAHEIRWLPNLTDFQVAFIHKLARQPEQSSELLSEAKKLSQ	48
Z17351 PP	ENLFAGWEISDLPNLTDYQRNAFIYKLVWDDPQSSELLSEAKKLSQ	49
Z17352 PP	ENLFAGWEISDLPNLTDYQRNAFIYKLVWDDPQSSELLSEAKKLSQ	50
Z17355 PP	ENLFAGWEISDLPNLTDYQRNAFIYKLVWDDPQSSELLSEAKKLNESQ	51
Z17357 PP	ENLFAGWEISDLPNLTDYQRNAFIYKLVWDDPQSSELLSEAKKLNESQ	52
Z17359 PP	ENLFAGWEISDLPNLTDYQRNAFIYKLVWDDPQSSELLSEAKKLSDSQ	53
Z17360 PP	ENLFAGWEISDLPNLTDYQRNAFIYKLVWDDPQSSELLSEAKKLSDSQ	54

Figura 1C

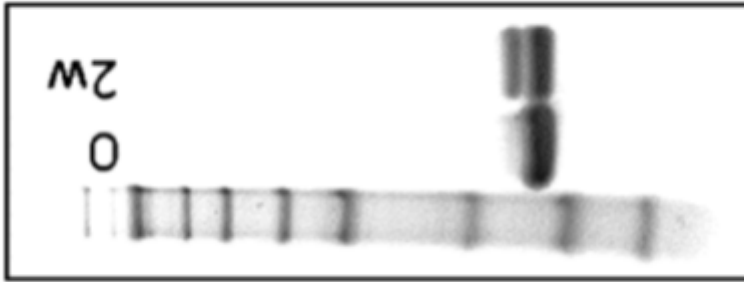


Figura 2

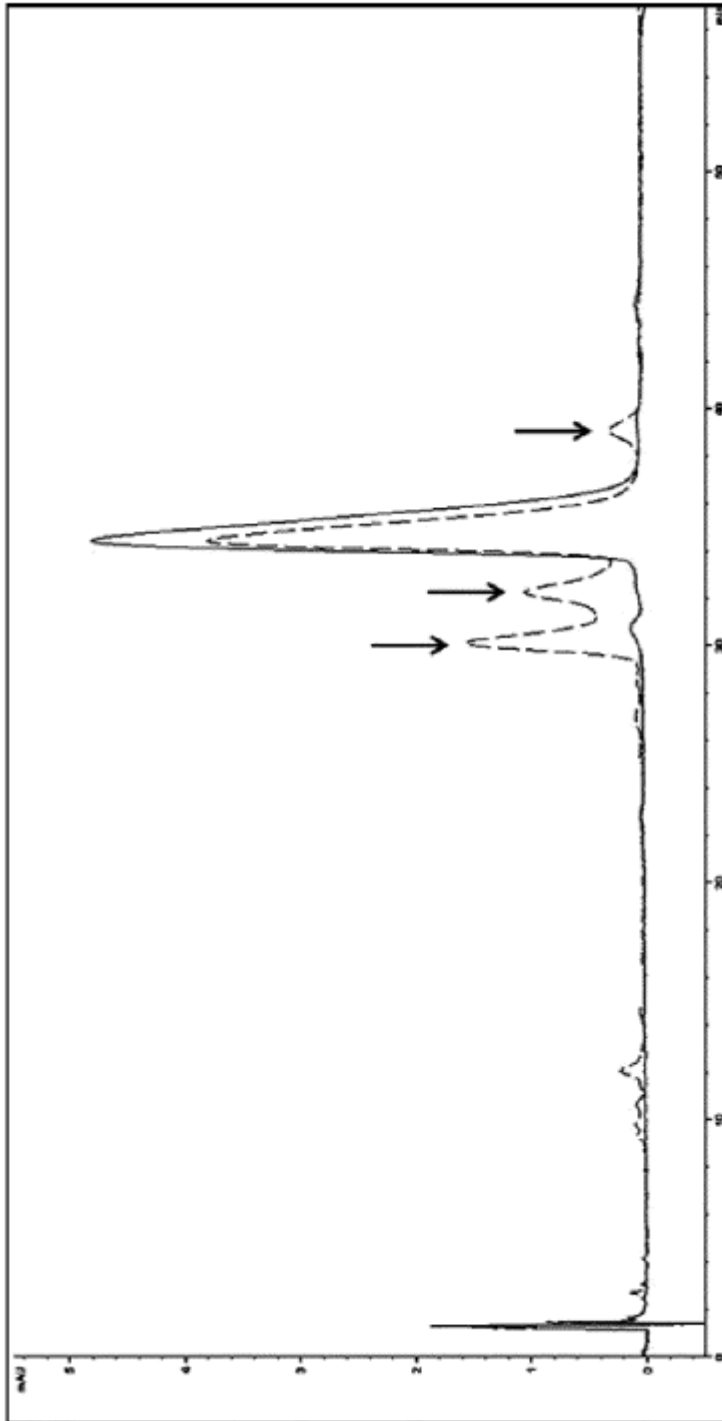


Figura 3

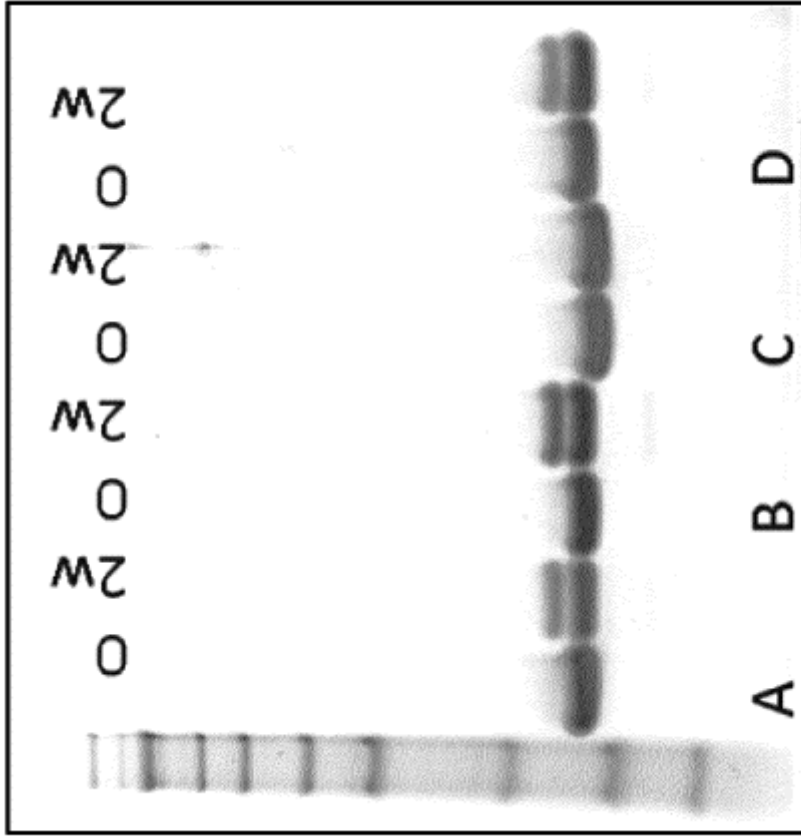


Figura 4

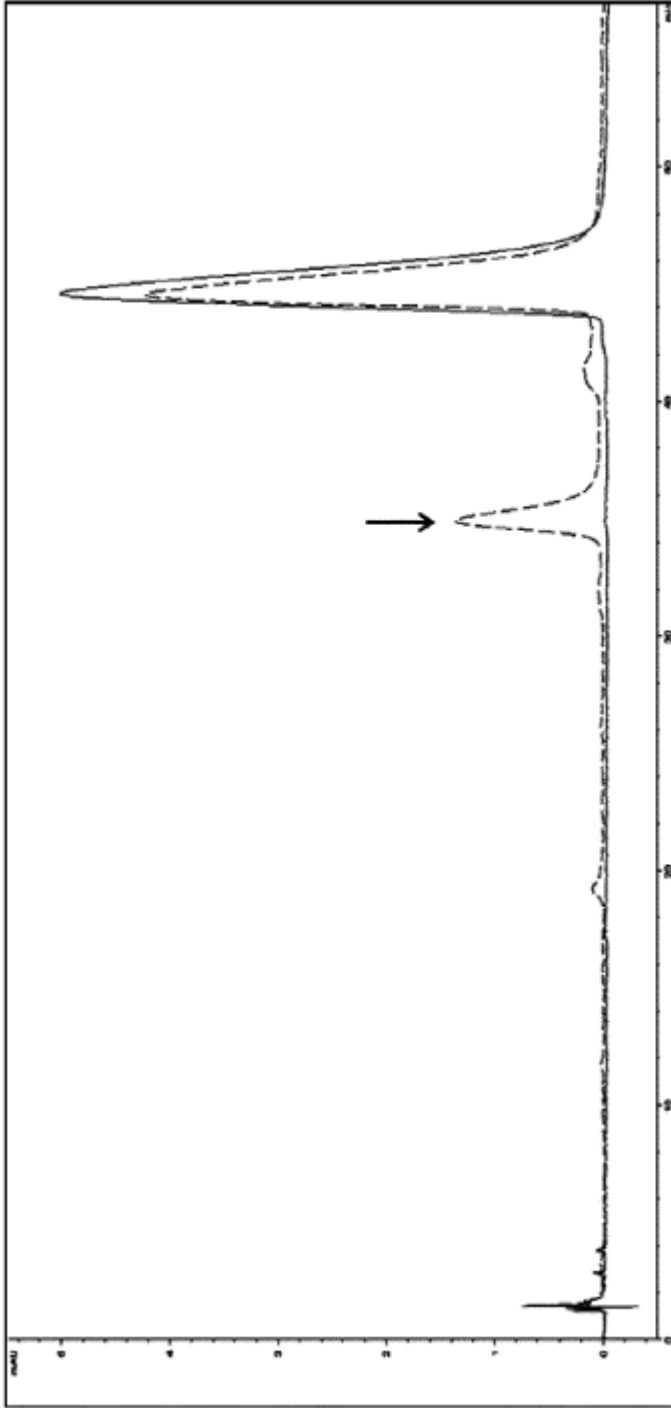


Figura 5



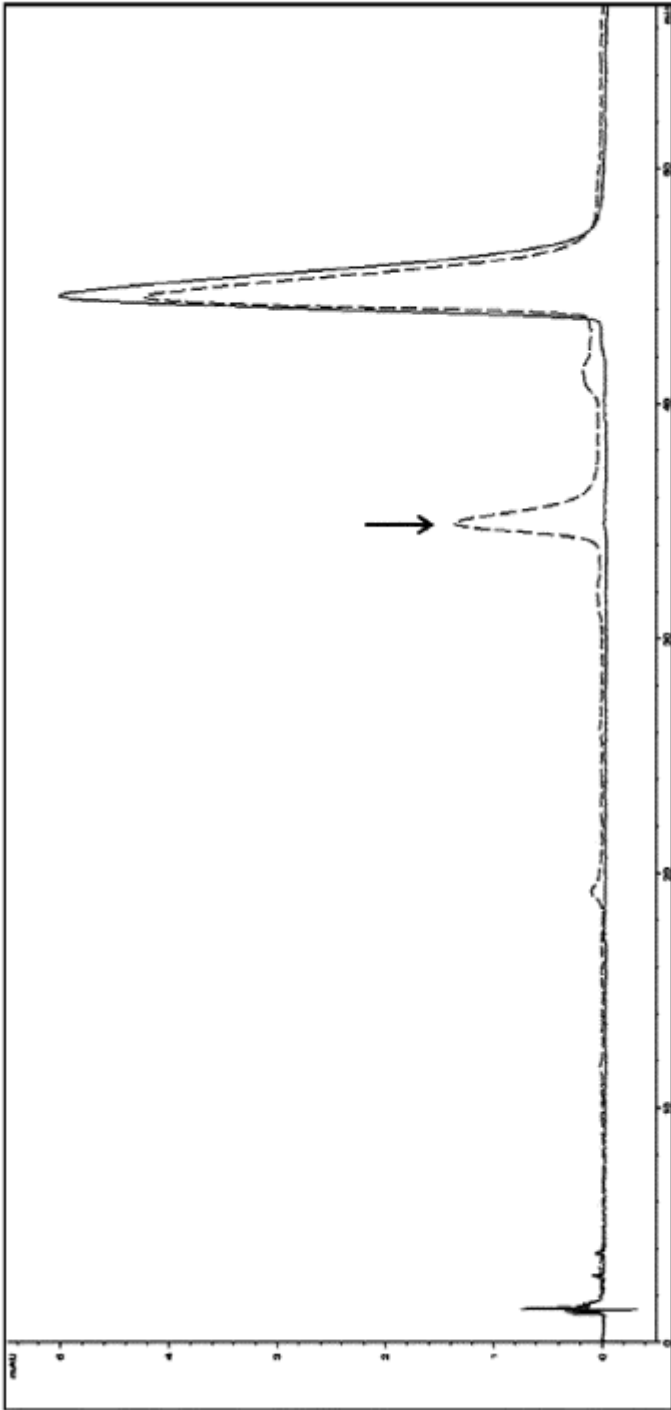


Figura 6

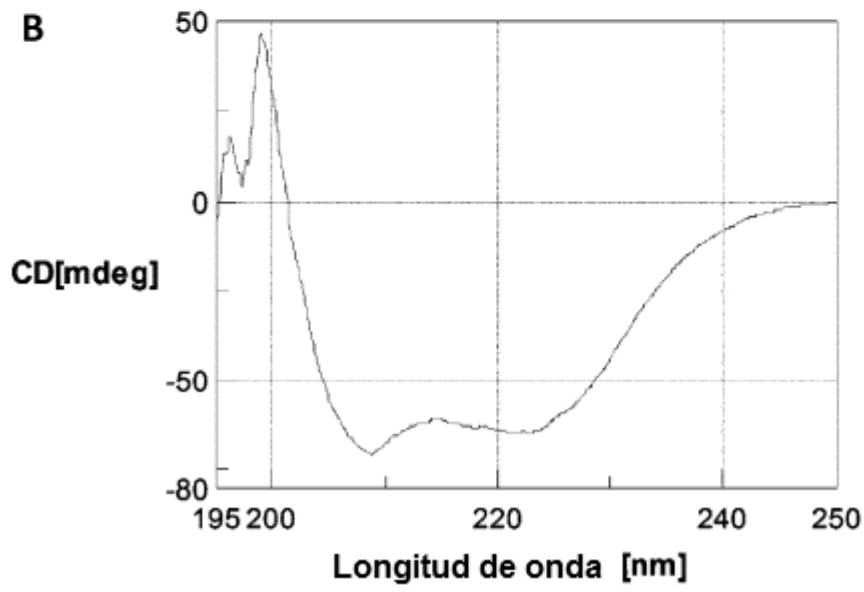
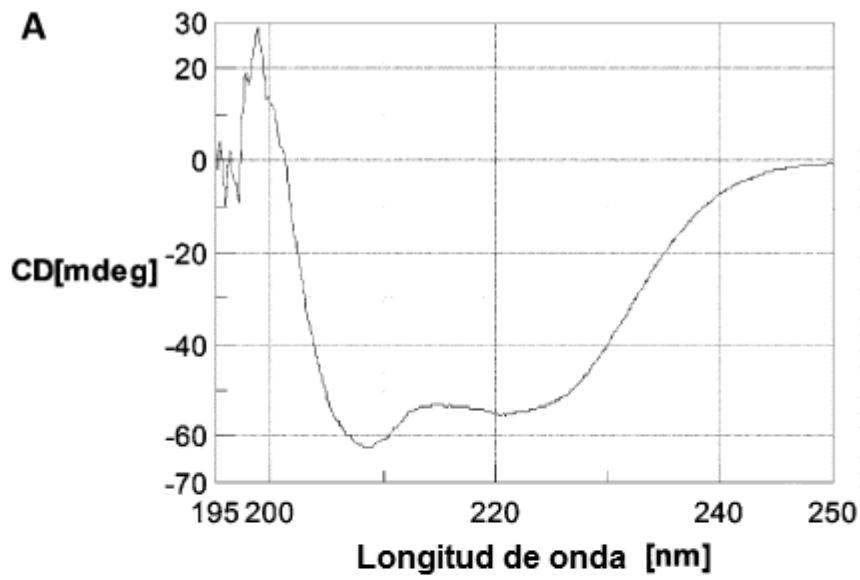


Figura 7A - 7B

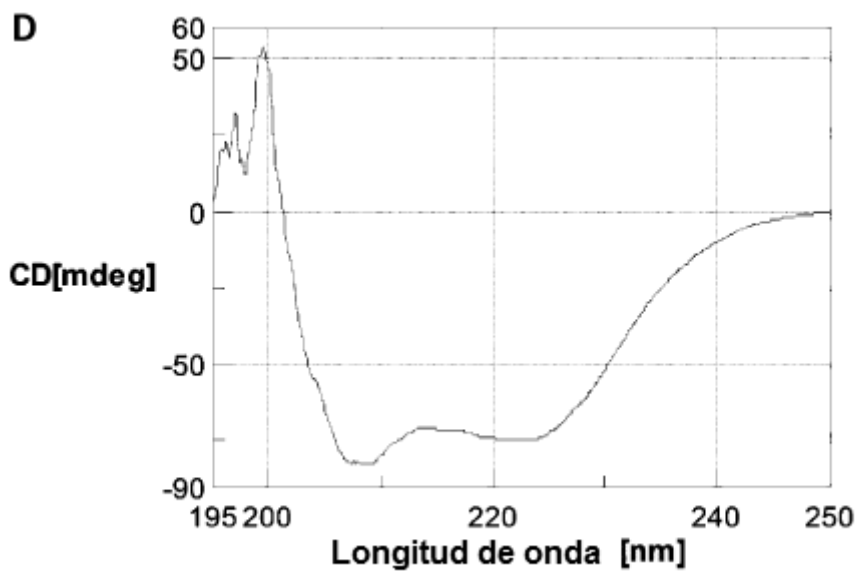
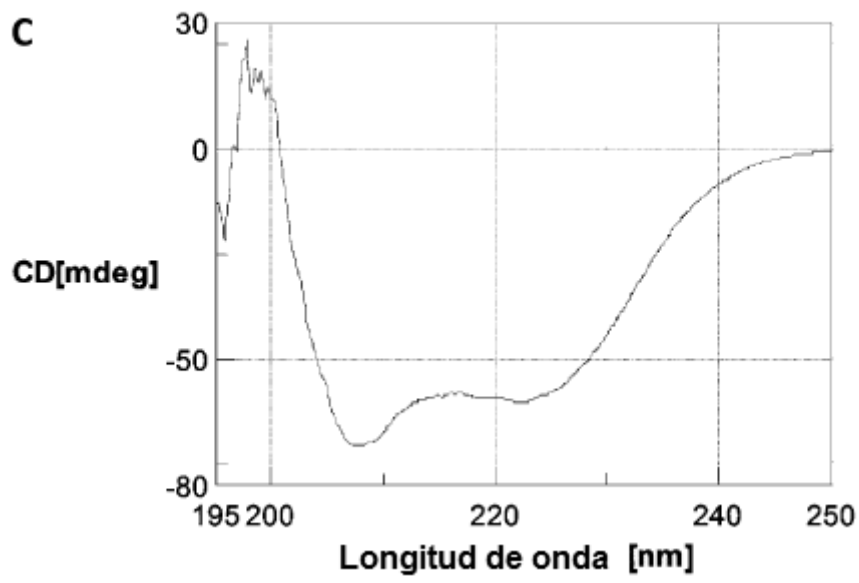


Figura 7C-7D

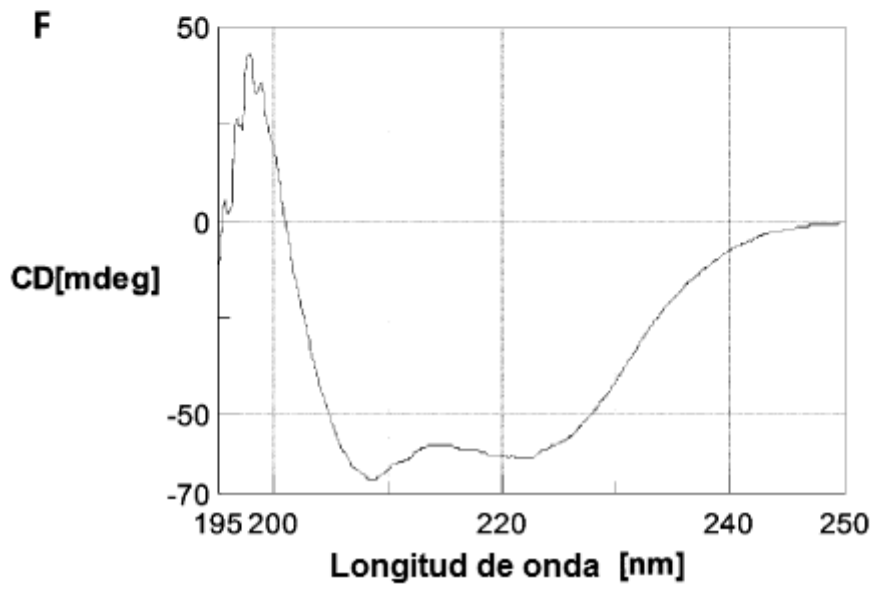
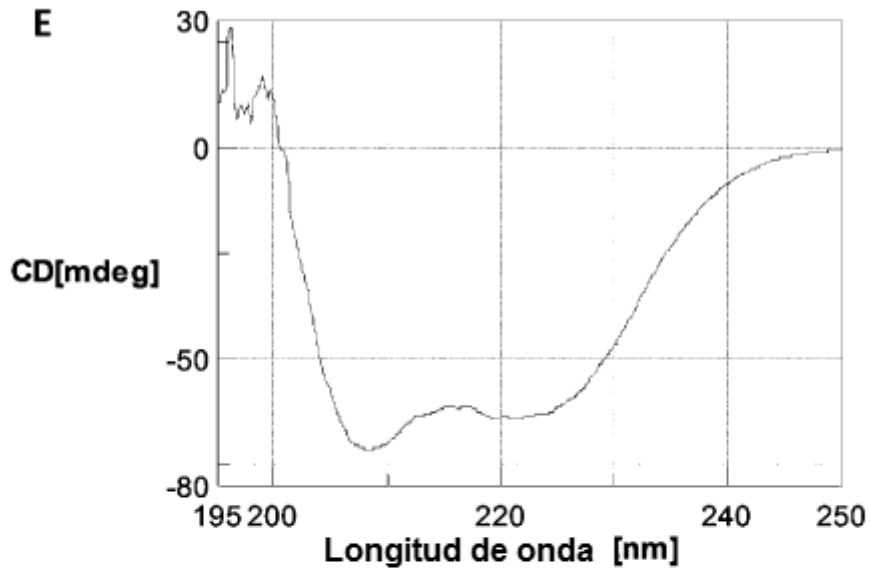


Figura 7E-7F

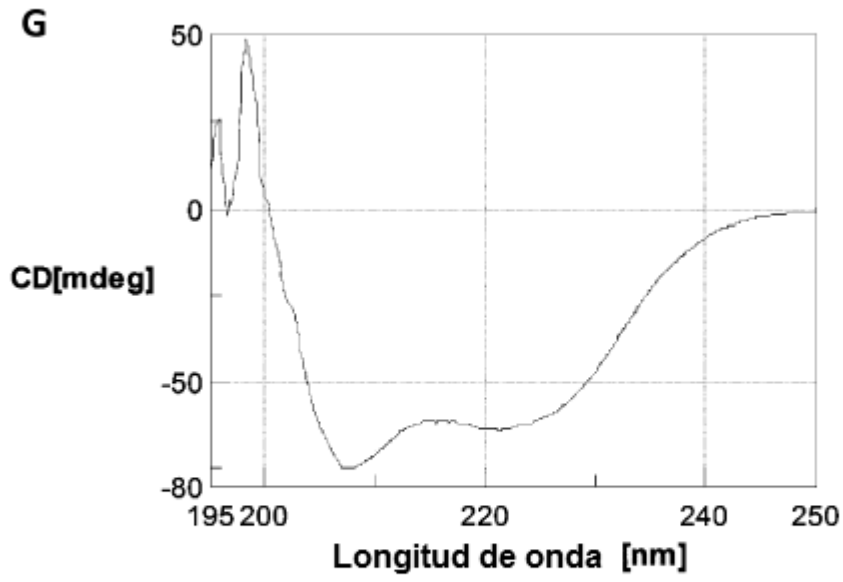


Figura 7G

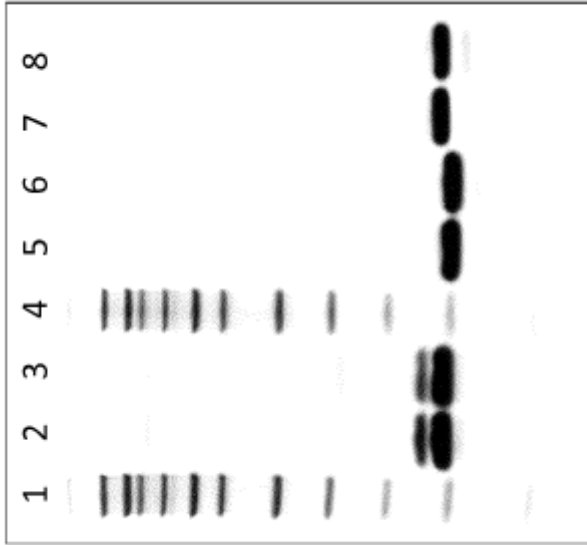


Figura 8A

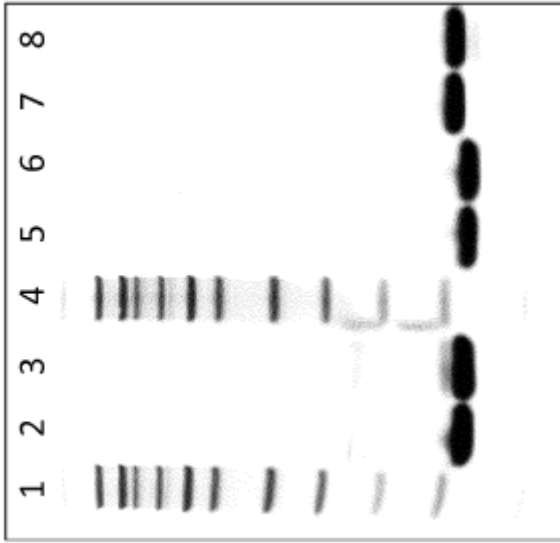


Figura 8B

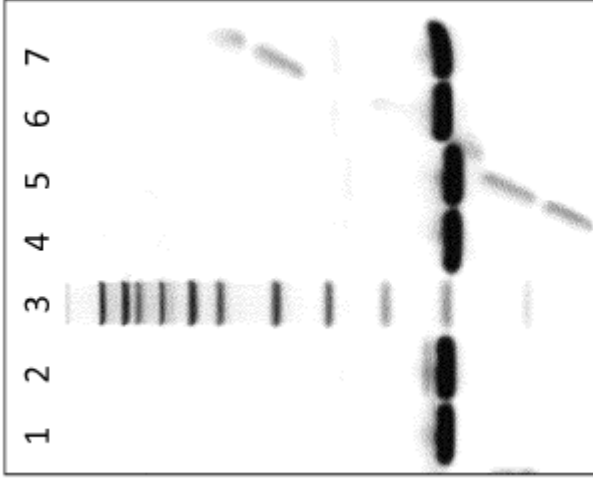


Figura 8C



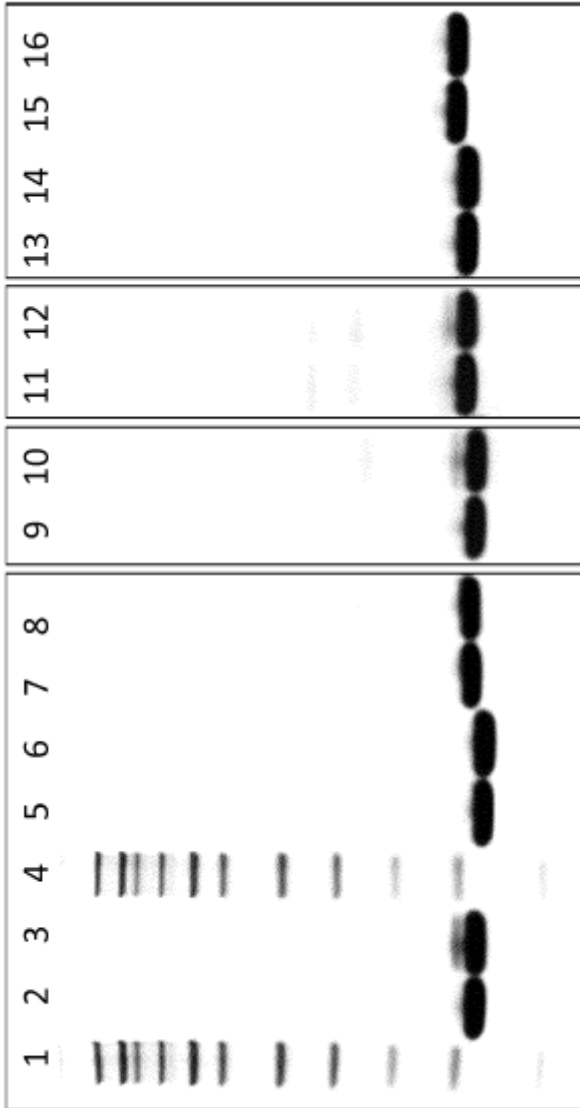


Figura 8D

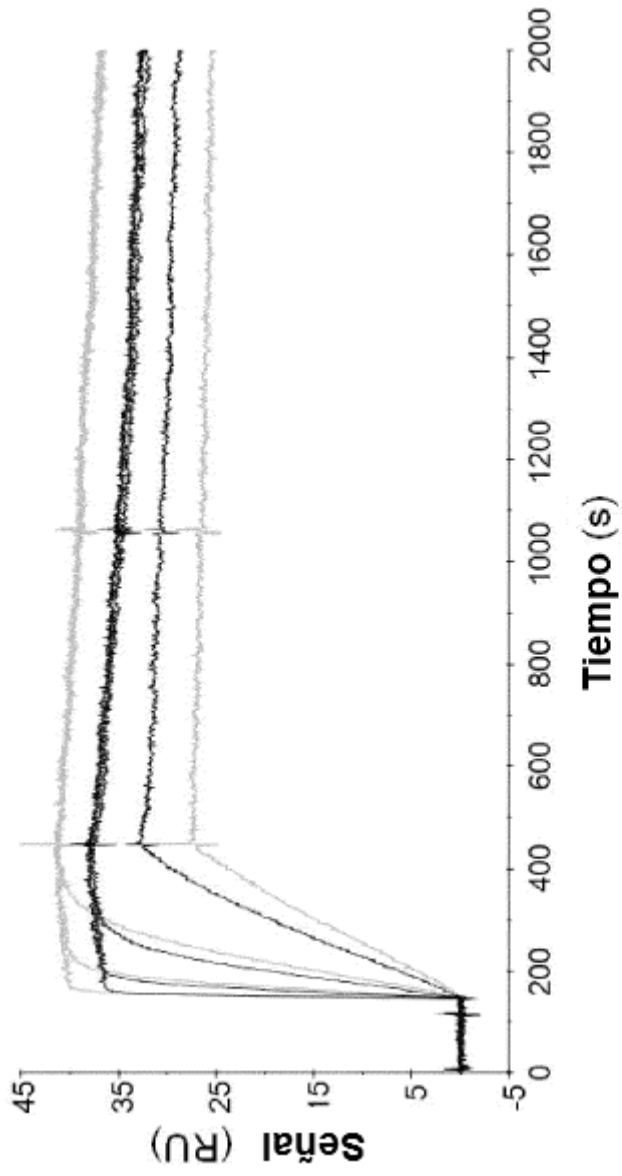


Figura 9A

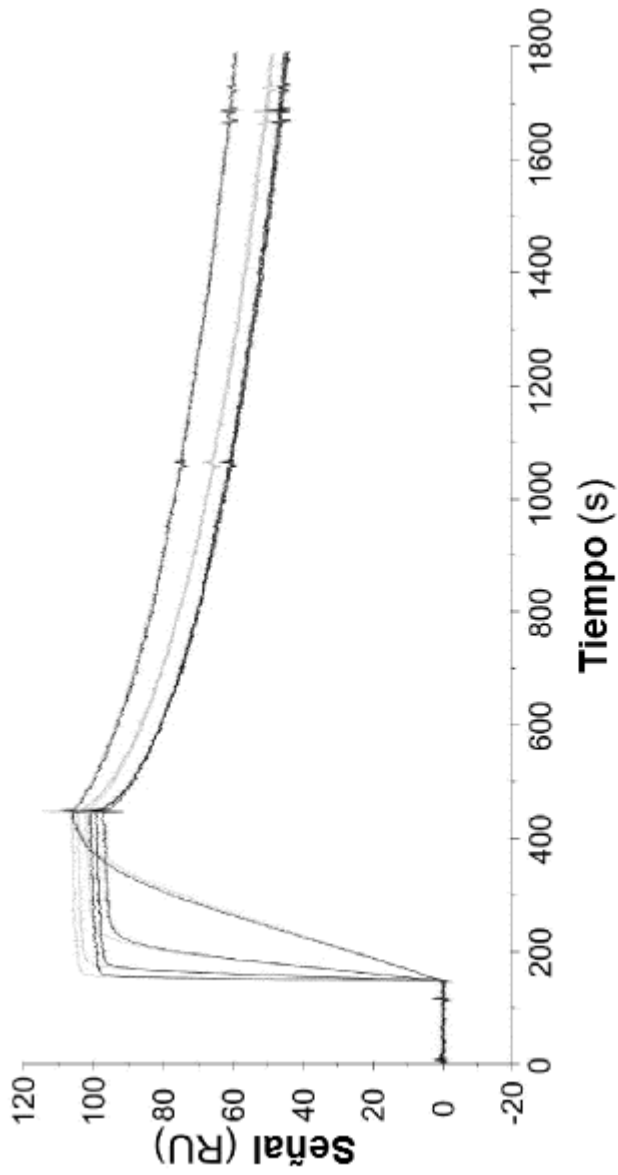


Figura 9B

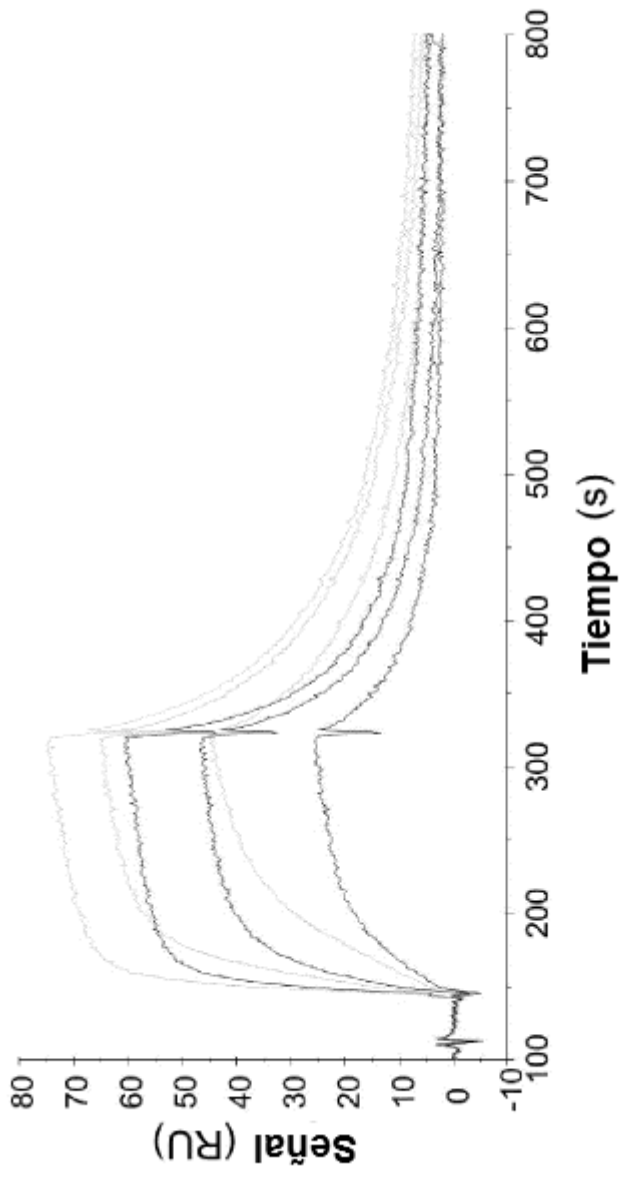


Figura 9C

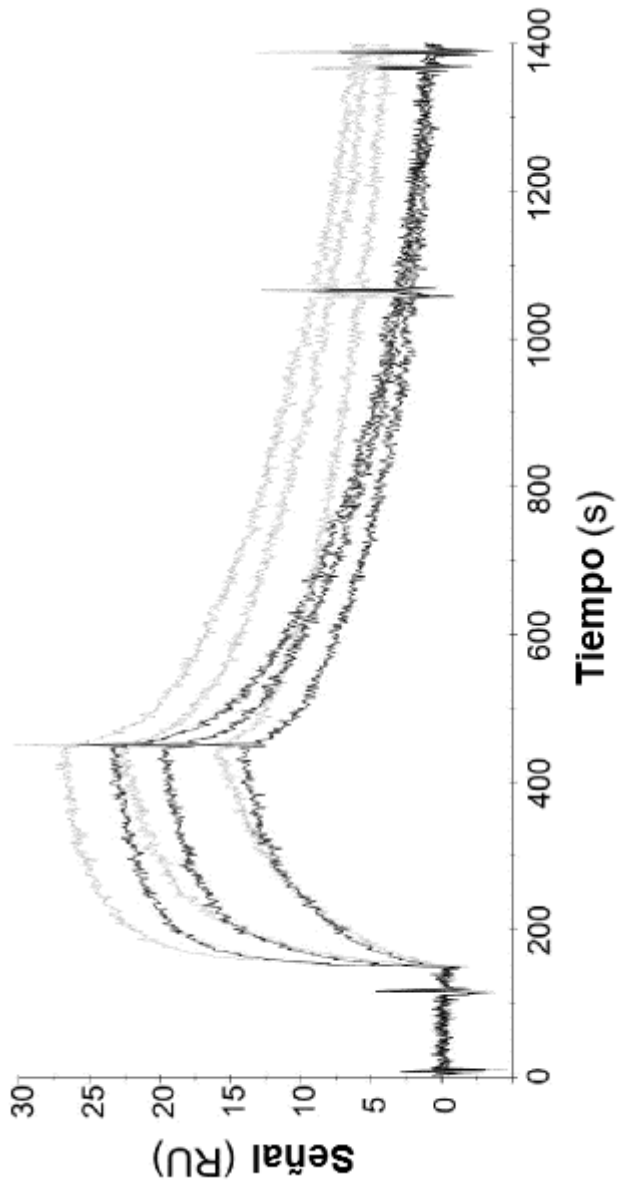


Figura 9D