

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 752 248**

51 Int. Cl.:

**C07K 19/00** (2006.01)  
**C12N 15/62** (2006.01)  
**A61K 47/50** (2007.01)  
**A61K 38/21** (2006.01)  
**A61P 35/00** (2006.01)  
**A61K 38/19** (2006.01)  
**A61K 38/20** (2006.01)  
**C12N 15/63** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **10.11.2015 PCT/CN2015/094235**  
87 Fecha y número de publicación internacional: **02.06.2016 WO16082677**  
96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.11.2015 E 15862694 (5)**  
97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.09.2019 EP 3227342**

54 Título: **Heterodímero proteínico y uso del mismo**

30 Prioridad:

**24.11.2014 CN 201410681422**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**03.04.2020**

73 Titular/es:

**DINGFU BIOTARGET CO., LTD. (100.0%)  
A6-402, Biobay, Suzhou  
Jiangsu 215125, CN**

72 Inventor/es:

**XU, TING;  
LUAN, YAN;  
PENG, JIANJIAN;  
MA, SHULI;  
ZHAO, MENG;  
WANG, XIAOXIAO;  
MA, HUI;  
FU, SHILONG;  
PAN, XIAOLONG y  
NING, SHANSHAN**

74 Agente/Representante:

**ARIAS SANZ, Juan**

ES 2 752 248 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

Heterodímero proteínico y uso del mismo

5 **Antecedentes**

Aunque pueden detectarse respuestas inmunitarias contra antígenos tumorales (Disis *et al.* (1997) J. Clin. Oncol. 15: 3363-3367), las células malignas que provocan enfermedades a menudo no pueden provocar una respuesta inmunitaria que conduzca a rechazo. Estudios han demostrado que es posible potenciar la inmunogenicidad de células tumorales introduciendo moléculas inmunorreguladoras tales como citocinas y moléculas coestimuladoras en las mismas; sin embargo, la erradicación de células cancerosas residuales puede requerir la selección como diana de depósitos tumorales micrometastásicos ampliamente dispersados que no son accesibles para la transferencia génica directa. Además, la expresión y estabilidad de las moléculas inmunorreguladoras introducidas a menudo están lejos de ser satisfactorias. Inmunorreguladores tales como citocinas, producidas por células del sistema inmunitario, pueden activar, directa o indirectamente, las células de la respuesta inmunitaria adaptativa y pueden desempeñar un papel importante en la producción de inmunidad antitumoral protectora. El sistema inmunitario innato puede desencadenarse por productos bacterianos o señales de "peligro" que conducen a la liberación de citocinas proinflamatorias, tales como IFN- $\alpha$ , TNF- $\alpha$  e interleucinas.

Múltiples estudios han mostrado que los inmunorreguladores pueden ser útiles para ejercer efectos antitumorales tanto en modelos animales como en pacientes con cáncer. Sin embargo, la corta semivida y la toxicidad sistémica relacionadas con la aplicación de inmunorreguladores han limitado enormemente su uso. El documento WO 00/06605 A2 da a conocer un compuesto multifuncional, que es un heterodímero funcional de dos cadenas polipeptídicas que comprenden un dominio de región constante de una cadena pesada de inmunoglobulina y un dominio constante de una cadena ligera de inmunoglobulina. Fusionados a tales dominios constantes, están presentes al menos dos polipéptidos que tienen diferentes funciones de receptor o ligando, tales como función de receptor o ligando incluyendo moléculas efectoras inmunomoduladoras. El documento US 2014/050660 A1 da a conocer anticuerpos biespecíficos y su uso como complejos de redireccionamiento de células T, comprendiendo tales anticuerpos biespecíficos al menos un sitio de unión para un antígeno de células T y al menos un sitio de unión para un antígeno en un patógeno o célula de enfermedad. Tal complejo es capaz de seleccionar como diana células T efectoras para inducir citotoxicidad mediada por células T de células asociadas con una enfermedad. La respuesta inmunitaria citotóxica se potencia mediante la coadministración de agentes basados en interferón. El documento WO 2014/164427 A1 da a conocer proteínas de fusión quiméricas recombinantes para terapia contra el cáncer, es decir, anticuerpos específicos para antígenos asociados a tumores que comprenden un inmunorregulador en el extremo N- o C-terminal de la cadena pesada o ligera de tal anticuerpo. El documento WO 2009/039409 A1 da a conocer anticuerpos quiméricos adicionales que comprenden un resto de direccionamiento unido a un interferón. El documento también describe restos quiméricos que comprenden una proteína de fusión, en la que un anticuerpo con especificidad hacia un marcador cancerígeno se fusiona con interferón- $\alpha$ . En el documento CN200880117225.8, se ha descrito un constructo quimérico que comprende un interferón unido al extremo C-terminal de un anticuerpo que selecciona como diana un antígeno asociado a tumor. Sin embargo, las proteínas de fusión expresadas a partir de un constructo quimérico de este tipo son normalmente muy inestables *in vivo*, y el rendimiento de expresión de las mismas no es normalmente lo suficientemente alto para la producción a escala industrial.

45 **Sumario**

Como tal, existe una necesidad considerable de expresión dirigida de inmunorreguladores, que puedan producirse con rendimiento relativamente alto a escala industrial y que tengan una semivida relativamente larga *in vivo* para que sean útiles en el tratamiento de trastornos o enfermedades relacionados con hiperproliferación de células y/o tejidos, por ejemplo, diversas neoplasias, diferentes tipos de cáncer y/o tumores.

La presente divulgación aborda una necesidad de este tipo y proporciona ventajas relacionadas también. La presente divulgación abarca complejos proteínicos útiles en la inhibición del crecimiento tumoral, y composiciones, medicamentos y/o kits que comprenden los complejos proteínicos. La divulgación también proporciona métodos para la producción de los complejos proteínicos, así como usos farmacéuticos de los complejos proteínicos en la inhibición del crecimiento tumoral, incluyendo, pero sin limitarse a, el tratamiento de cánceres.

En algunos aspectos, los complejos proteínicos de la presente divulgación tienen una actividad antitumoral significativa. En algunos aspectos, los complejos proteínicos de la presente divulgación tienen un alto rendimiento de expresión. En algunos aspectos, los heterodímeros proteínicos de la presente divulgación tienen una semivida *in vivo* larga. En algunos aspectos, los heterodímeros proteínicos de la presente divulgación son particularmente adecuados para producción industrial a gran escala.

En un aspecto, la presente divulgación proporciona complejos proteínicos. Según la invención, el complejo proteínico comprende (1) una cadena pesada y una cadena ligera de un anticuerpo específico para un antígeno tumoral; y (2) una proteína de fusión que consiste en, desde el extremo N-terminal hasta el extremo C-terminal, uno o más inmunorreguladores fusionados a una región Fc de anticuerpo, opcionalmente por medio de uno o más

ligadores, en el que la región Fc de anticuerpo de (2) se compleja con la cadena pesada de (1) para formar un heterodímero.

En algunas realizaciones, las cadenas pesada y ligera de parte (1) del complejo proteínico se unen específicamente a un antígeno tumoral que es una proteína de membrana. En algunas realizaciones, dicho antígeno tumoral es un receptor de superficie celular. Por ejemplo, las cadenas pesada y ligera de la parte (1) del complejo proteínico pueden unirse específicamente a un antígeno tumoral que es un receptor de superficie celular seleccionado del grupo que consiste en receptor de factor de crecimiento transformante (TGFR), receptor de factor de crecimiento epidérmico (EGFR), receptor de factor de crecimiento similar a la insulina (IGFR), receptor de factor de crecimiento de fibroblastos (FGFR), receptor de heregulina, receptor de factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGFR), receptor de factor de crecimiento endotelial vascular (VEGFR) y receptor de factor inducible por hipoxia (HIFR).

En algunas realizaciones, las cadenas pesada y ligera de la parte (1) del complejo proteínico se unen específicamente a un antígeno tumoral que es un factor de crecimiento, hormona o una molécula de la matriz extracelular. Por ejemplo, dicho antígeno tumoral es un factor de crecimiento, hormona o una molécula de la matriz extracelular seleccionada del grupo que consiste en factor de crecimiento transformante (TGF), factor de crecimiento epidérmico (EGF), factor de crecimiento similar a la insulina (IGF), factor de crecimiento de fibroblastos (FGF), heregulina, factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF), factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), factor inducible por hipoxia (HIF), c-Met, gonadotropina coriónica humana, hormona liberadora de gonadotropina, andrógeno, estrógeno, hormona estimulante del tiroides, hormona folículoestimulante, hormona luteinizante, prolactina, hormona del crecimiento, hormona adrenocorticotropa, hormona antidiurética, oxitocina, hormona liberadora de tirotropina, hormona liberadora de hormona del crecimiento, hormona liberadora de corticotropina, somatostatina, dopamina, melatonina, tiroxina, calcitonina, hormona paratiroidea, glucocorticoides, mineralocorticoides, adrenalina, noradrenalina, progesterona, insulina, glucagón, amilina, eritropoyetina, calcitriol, calciferol, péptido natriurético auricular, gastrina, secretina, colecistocinina, neuropéptido Y, grelina, PYY3-36, leptina, trombopoyetina, angiotensinógeno, IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-11, IL-12, IL-13, IL-14, IL-15, IL-16, IL-17, IL-18, IL-19, IL-20, IL-21, IL-22, IL-23, IL-24, IL-25, IL-26, IL-27, IL-28, IL-29, IL-30, IL-31, IL-32, IL-33, IL-34, IL-35, IL-36, colágeno, elastina, biglicano, decorina, lumicano, versicano, perlecano, proteína C-reactiva, ApoE y lamininas.

En algunas realizaciones, las cadenas pesada y ligera de la parte (1) del complejo proteínico se unen específicamente a un antígeno tumoral seleccionado del grupo que consiste en mutante de EGFR, HER2/neu, HER3, HER4, CD4, CD19, CD20, CD22, CD29b, CD30, CD33, CD37, CD38, CD52, CD70, CD79b, CD123, CD138, CD200, CD276, CXCR3, CXCR5, CCR3, CCR4, CCR9, CRTH2, PMCH, endoplasmina, CS1, CEA, mesotelina, G250, MUC1, MUC16, PSMA, ADAM17, EPCAM, EphA2, MCSP, GPA33, NAPI2b, STEAP1, CEACAM1, CEACAM5, GPNMB y TROP. Por ejemplo, las cadenas pesada y ligera de la parte (1) del complejo proteínico pueden unirse específicamente a EGFR, un mutante de EGFR o HER2/neu. En algunas realizaciones, la cadena ligera de la parte (1) del complejo proteínico contiene regiones determinantes de complementariedad (CDR) que comprenden una secuencia de aminoácidos que es al menos el 60%, el 70%, el 75%, el 80%, el 85%, el 90%, el 95%, el 96%, el 97%, el 98%, el 99% o el 100% idéntica a la comprendida en CDR correspondientes de una cadena ligera de un anticuerpo específicamente dirigido a un antígeno tumoral. En algunas realizaciones, la cadena ligera de la parte (1) del complejo proteínico contiene una región variable que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos el 60%, el 70%, el 75%, el 80%, el 85%, el 90%, el 95%, el 96%, el 97%, el 98%, el 99% o el 100% idéntica a la comprendida en una región variable de una cadena ligera de un anticuerpo específicamente dirigido a un antígeno tumoral.

En algunas realizaciones, la cadena ligera de la parte (1) del complejo proteínico comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos el 60%, el 70%, el 75%, el 80%, el 85%, el 90%, el 95%, el 96%, el 97%, el 98%, el 99% o el 100% idéntica a la comprendida en una cadena ligera de un anticuerpo específicamente dirigido a un antígeno tumoral. En algunas realizaciones, la cadena pesada de la parte (1) del complejo proteínico contiene CDR que comprenden una secuencia de aminoácidos que es al menos el 60%, el 70%, el 75%, el 80%, el 85%, el 90%, el 95%, el 96%, el 97%, el 98%, el 99% o el 100% idéntica a la comprendida en CDR correspondientes de una cadena pesada de un anticuerpo específicamente dirigido a un antígeno tumoral. En algunas realizaciones, la cadena pesada de la parte (1) del complejo proteínico contiene una región variable que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos el 60%, el 70%, el 75%, el 80%, el 85%, el 90%, el 95%, el 96%, el 97%, el 98%, el 99% o el 100% idéntica a la comprendida en una región variable de una cadena pesada de un anticuerpo específicamente dirigido a un antígeno tumoral.

En algunas realizaciones, la cadena pesada de la parte (1) del complejo proteínico comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos el 60%, el 70%, el 75%, el 80%, el 85%, el 90%, el 95%, el 96%, el 97%, el 98%, el 99% o el 100% idéntica a la comprendida en una cadena pesada de un anticuerpo específicamente dirigido a un antígeno tumoral. En algunas realizaciones, la cadena ligera de la parte (1) del complejo proteínico contiene CDR que comprenden una secuencia de aminoácidos que es al menos el 60%, el 70%, el 75%, el 80%, el 85%, el 90%, el 95%, el 96%, el 97%, el 98%, el 99% o el 100% idéntica a la comprendida en CDR correspondientes de una cadena ligera de un anticuerpo específicamente dirigido a un antígeno tumoral; y la cadena pesada de la parte (1) del

complejo proteínico contiene CDR que comprenden una secuencia de aminoácidos que es al menos el 60%, el 70%, el 75%, el 80%, el 85%, el 90%, el 95%, el 96%, el 97%, el 98%, el 99% o el 100% idéntica a la comprendida en CDR correspondientes de una cadena pesada del anticuerpo específicamente dirigido a un antígeno tumoral. En algunas realizaciones, la cadena ligera de la parte (1) del complejo proteínico contiene una región variable que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos el 60%, el 70%, el 75%, el 80%, el 85%, el 90%, el 95%, el 96%, el 97%, el 98%, el 99% o el 100% idéntica a la comprendida en una región variable de una cadena ligera de un anticuerpo específicamente dirigido a un antígeno tumoral; y en la que la cadena pesada de la parte (1) del complejo proteínico contiene una región variable que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos el 60%, el 70%, el 75%, el 80%, el 85%, el 90%, el 95%, el 96%, el 97%, el 98%, el 99% o el 100% idéntica a la comprendida en una región variable de una cadena pesada del anticuerpo específicamente dirigido a un antígeno tumoral.

En algunas realizaciones, la cadena ligera de la parte (1) del complejo proteínico contiene una secuencia de aminoácidos que es al menos el 60%, el 70%, el 75%, el 80%, el 85%, el 90%, el 95%, el 96%, el 97%, el 98%, el 99% o el 100% idéntica a la comprendida en una cadena ligera de un anticuerpo específicamente dirigido a un antígeno tumoral; y en la que la cadena pesada de la parte (1) del complejo proteínico contiene una secuencia de aminoácidos que es al menos el 60%, el 70%, el 75%, el 80%, el 85%, el 90%, el 95%, el 96%, el 97%, el 98%, el 99% o el 100% idéntica a la comprendida en una cadena pesada del anticuerpo específicamente dirigido a un antígeno tumoral. En algunas realizaciones, el anticuerpo específicamente dirigido a un antígeno tumoral es un anticuerpo seleccionado del grupo que consiste en anticuerpo anti-HER2/neu, anti-HER3, anti-HER4, anti-CD4, anti-CD19, anti-CD20, anti-CD22, anti-CD29b, anti-CD30, anti-CD33, anti-CD37, anti-CD38, anti-CD52, anti-CD70, anti-CD79b, anti-CD123, anti-CD138, anti-CD200, anti-CD276, anti-CXCR3, anti-CXCR5, anti-CCR3, anti-CCR4, anti-CCR9, anti-CRTH2, anti-PMCH, anti-endoplasmina, anti-VEGFR, anti-PDGFR, anti-CSI, anti-CEA, anti-mesotelina, anti-G250, anti-MUC1, anti-MUC16, anti-PSMA, anti-ADAM17, anti-EPCAM, anti-EphA2, anti-MCSP, anti-GPA33, anti-NAPI2b, anti-STEAPI, anti-CEACAM1, anti-CEACAM5, anti-GPNMB, anti-TROP, anti-TFGR, anti-EGFR, anti-IGFR, anti-FGFR, anti-HIFR, anti-receptor de heregulina, anti-VEGF, anti-c-Met, anti-TGF, anti-EGF, anti-IGF, anti-FGF, anti-heregulina, anti-PDGF, anti-HIF, anti-gonadotropina coriónica humana, anti-hormona liberadora de gonadotropina, anti-andrógeno, anti-estrógeno, anti-hormona estimulante del tiroides, anti-hormona foliculoestimulante, anti-hormona luteinizante, anti-prolactina, anti-hormona del crecimiento, anti-hormona adrenocorticotropa, anti-hormona antidiurética, anti-oxitocina, anti-hormona liberadora de tiotropina, anti-hormona liberadora de hormona del crecimiento, anti-hormona liberadora de corticotropina, anti-somatostatina, anti-dopamina, anti-melatonina, anti-tiroxina, anti-calcitonina, anti-hormona paratiroidea, anti-glucocorticoides, anti-mineralocorticoides, anti-adrenalina, anti-noradrenalina, anti-progesterona, anti-insulina, anti-glucagón, anti-amilina, anti-eritropoyetina, anti-calcitriol, anti-calciferol, anti-péptido natriurético auricular, anti-gastrina, anti-secretina, anti-colecistocinina, anti-neuropéptido Y, anti-grelina, anti-PYY3-36, anti-leptina, anti-trombopoyetina, anti-angiotensinógeno, anti-IL-1, anti-IL-2, anti-IL-3, anti-IL-4, anti-IL-5, anti-IL-6, anti-IL-7, anti-IL-8, anti-IL-9, anti-IL-10, anti-IL-11, anti-IL-12, anti-IL-13, anti-IL-14, anti-IL-15, anti-IL-16, anti-IL-17, anti-IL-18, anti-IL-19, anti-IL-20, anti-IL-21, anti-IL-22, anti-IL-23, anti-IL-24, anti-IL-25, anti-IL-26, anti-IL-27, anti-IL-28, anti-IL-29, anti-IL-30, anti-IL-31, anti-IL-32, anti-IL-33, anti-IL-34, anti-IL-35, anti-IL-36, anti-colágeno, anti-elastina, anti-biglicano, anti-decorina, anti-lumicano, anti-versicano, anti-perlecana, anti-proteína C-reactiva, anti-ApoE y anti-laminina.

Por ejemplo, el anticuerpo específicamente dirigido a un antígeno tumoral puede seleccionarse del grupo que consiste en anti-EGFR, anti-mutante de EGFR y anti-HER2.

En algunas realizaciones, el inmunorregulador comprendido en el complejo proteínico aumenta una respuesta inmunitaria. En algunas realizaciones, el inmunorregulador comprendido en el complejo proteínico reduce una respuesta inmunitaria. Por ejemplo, el inmunorregulador puede ser una citocina. En algunas realizaciones, el inmunorregulador es una citocina seleccionada del grupo que consiste en interferón, interleucina, quimiocina, linfocina, y factor de necrosis tumoral. Por ejemplo, el inmunorregulador puede ser interferón alfa, interferón lamda o interferón beta. En algunas realizaciones, el inmunorregulador se selecciona del grupo que consiste en interleucina 10, interleucina 2 y súper interleucina 2.

En algunas realizaciones, el complejo proteínico de la presente divulgación presenta un rendimiento de expresión que es al menos 3 veces (por ejemplo, al menos 4 veces, al menos 5 veces, al menos 6 veces, al menos 7 veces, al menos 8 veces, al menos 9 veces, al menos 10 veces, al menos 11 veces, al menos 12 veces, al menos 13 veces, al menos 14 veces, al menos 15 veces, al menos 16 veces, al menos 17 veces, o más) mayor que el que una proteína de control correspondiente cuando se expresa en una célula huésped de mamífero, en el que la proteína de control comprende un dímero de dos miembros, comprendiendo cada miembro una cadena ligera y una cadena pesada que forman un resto de direccionamiento que se une específicamente al antígeno tumoral, en el que la cadena pesada de cada miembro comprende además el inmunorregulador en un extremo C-terminal. Por ejemplo, la célula huésped de mamífero puede ser una célula HEK293.

En algunas realizaciones, el complejo proteínico de la presente divulgación presenta una semivida *in vivo* que es al menos 2 veces (por ejemplo, al menos 3 veces, al menos 4 veces, al menos 5 veces, al menos 6 veces, al menos 7 veces, o más) más prolongada que la de una proteína de control correspondiente cuando se expresa en ratón, en el que la proteína de control comprende un dímero de dos miembros, comprendiendo cada miembro una cadena ligera

y una cadena pesada que forman un resto de direccionamiento que se une específicamente al antígeno tumoral, en el que la cadena pesada de cada miembro comprende además el inmunorregulador en un extremo C-terminal. En algunas realizaciones, la cadena pesada de la parte (1) y la región Fc de anticuerpo del complejo proteínico objeto comprenden cada una una secuencia de dimerización que media en la heterodimerización de un miembro y el otro miembro para formar el heterodímero. La secuencia de dimerización puede ser una secuencia de heterodimerización. En algunas realizaciones, la secuencia de heterodimerización comprende uno o más residuos para efectuar la heterodimerización por medio de un enlace covalente. Por ejemplo, la secuencia de dimerización puede comprender una región constante de una inmunoglobulina seleccionada del grupo que consiste en IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4.

En algunas realizaciones, la heterodimerización se efectúa por medio de una afinidad por parejas no covalente de la secuencia de dimerización o heterodimerización contenida en la cadena pesada de la parte (1) del complejo proteínico y la región Fc de anticuerpo.

En algunas realizaciones, la región Fc de anticuerpo se fusiona en marco con el inmunorregulador. Por ejemplo, la región Fc de anticuerpo puede fusionarse en marco con el inmunorregulador por medio de un ligador.

En algunas realizaciones, la proteína de fusión de la parte (2) del complejo proteínico comprende 2 o más inmunorreguladores fusionados en marco entre sí y con la región Fc de anticuerpo. Por ejemplo, la proteína de fusión puede comprender 2 o más inmunorreguladores del mismo tipo. En algunas realizaciones, la proteína de fusión comprende 2 o más inmunorreguladores de diferentes tipos.

En un aspecto, la presente divulgación proporciona un polinucleótido aislado que codifica para el complejo proteínico objeto de la presente divulgación.

En un aspecto, la presente divulgación proporciona un vector que comprende el polinucleótido aislado de la presente divulgación.

En un aspecto, la presente divulgación proporciona una célula huésped aislada que comprende el polinucleótido aislado o el vector de la presente divulgación.

En un aspecto, la presente divulgación proporciona una composición farmacéutica que comprende un excipiente farmacéuticamente aceptable y un complejo proteínico aislado de la presente divulgación. La composición farmacéutica puede formularse para administración oral, administración intravenosa, administración intramuscular, administración *in situ* en el sitio de un tumor, inhalación, administración rectal, administración vaginal, administración transdérmica o administración por medio de depósito subcutáneo.

En un aspecto, la presente divulgación proporciona el complejo proteínico objeto para su uso como medicamento y/o un kit para su uso en la inhibición del crecimiento de un tumor o una célula tumoral.

En algunas realizaciones, el uso según la presente invención comprende poner en contacto el tumor o célula tumoral con una cantidad eficaz del complejo proteínico de la presente divulgación. En algunas realizaciones, la puesta en contacto se produce *in vitro*. En algunas realizaciones, la puesta en contacto se produce *in vivo*.

En un aspecto, la presente divulgación proporciona un método de producción de un complejo proteínico, que comprende (i) cultivar la célula huésped de la presente divulgación en condiciones para efectuar la expresión del complejo, y (ii) recoger el complejo expresado.

### Breve descripción de los dibujos

Las características novedosas de la divulgación se exponen con particularidad en las reivindicaciones adjuntas. Se obtendrá una mejor comprensión de las características y ventajas de la presente divulgación mediante la referencia a la siguiente descripción detallada que expone realizaciones ilustrativas, en las que se utilizan los principios de la divulgación, y los dibujos adjuntos de los cuales:

La figura 1 ilustra el rendimiento de expresión del heterodímero Erb-mulFNb y la proteína de fusión C-terminal de control ErbHCmulFNb.

La figura 2 ilustra los resultados del análisis farmacocinético para el heterodímero Erb-hulFNb.

La figura 3 ilustra los resultados del análisis farmacocinético para el heterodímero Erb-hulFNL.

La figura 4 ilustra la afinidad de unión a la diana específica de los heterodímeros Erb-mulFNb, Erb-hulFNb y Erb-hulFNL a EGFR.

La figura 5 ilustra actividades antivirales de los heterodímeros Erb-mulFNb (A), Erb-hulFNL (B) y Erb-hulFNa2 (C).

- La figura 6 ilustra la actividad antitumoral *in vivo* de los heterodímeros Erb-mulFNb y Erb-hulFNL.
- La figura7 ilustra la actividad antitumoral *in vivo* del heterodímero Erb-mulFNa4.
- 5 La figura 8 ilustra la actividad antitumoral *in vitro* del heterodímero Tmab-hulFNa2 sobre la línea celular MCF-7.
- la figura 9 ilustra la actividad antitumoral *in vitro* del heterodímero Erb-hulFNb sobre la línea celular A431.
- 10 La figura10 ilustra los resultados del análisis de SDS PAGE para la purificación de los heterodímeros Erb-huL10 y Erb-(huL10)2. Carril 1:Erb-huL10 (muestra original); carril 2: Erb-huL10 (fracción no retenida); carril 3: Erb-huL10 (eluído); carril 4: marcador proteico; carril 5: Erb-(huL10)2 (eluído); carril 6: Erb-(huL10)2 (original); carril 7: Erb-(huL10)2 (fracción no retenida); carril 8: patrón; carril 9: control; carril 10: blanco; carril 11: Erb-huL10 (eluído, no reducido); carril 12: Erb-(huL10)2 (eluído, no reducido).
- 15 La figura 11 ilustra los resultados del análisis farmacocinético para los heterodímeros Erb-huL10 y Erb-(huL10)2.
- La figura 12 ilustra la afinidad de unión a la diana específica de los heterodímeros Erb-huL10 y Erb-(huL10)2 a EGFR usando la línea celular A431 (A) y la línea celular B16 (B), respectivamente.
- 20 La figura 13 ilustra la afinidad de unión a la diana específica del heterodímero Erb-(huL10)2 a EGFR con ensayo ELISA.
- La figura 14 ilustra la afinidad de unión a la diana específica del heterodímero Mab806-(huL10)2 a EGFR.
- 25 La figura 15 ilustra la afinidad de unión a la diana específica de los heterodímeros Tmab-(huL10)2 y Tmab-hulFNa2 a HER2, usando la línea celular MCF-7 (A) y la línea celular SK-BR-3, respectivamente.
- La figura 16 ilustra la afinidad de unión a la diana específica del heterodímero Pmab-(huL10)2 a HER2, usando la línea celular SK-BR-3.
- 30 La figura 17 ilustra la actividad de Erb-huL10 en la inhibición de la liberación estimulada por lipopolisacárido (LPS) de TNF- $\alpha$  por células mononucleares de sangre periférica (PBMC).
- 35 La figura 18 ilustra la actividad de Erb-(huL10)2 en la inhibición de la liberación estimulada por lipopolisacárido (LPS) de TNF- $\alpha$  por células mononucleares de sangre periférica (PBMC).
- La figura 19 ilustra la actividad de Mab806-(huL10)2 en la inhibición de la liberación estimulada por lipopolisacárido (LPS) de TNF- $\alpha$  por células mononucleares de sangre periférica (PBMC).
- 40 La figura 20 ilustra la actividad de Tmab-(huL10)2 en la inhibición de la liberación estimulada por lipopolisacárido (LPS) de TNF- $\alpha$  por células mononucleares de sangre periférica (PBMC).
- La figura 21 ilustra la actividad de Pmab-(huL10)2 en la inhibición de la liberación estimulada por lipopolisacárido (LPS) de TNF  $\alpha$  por células mononucleares de sangre periférica (PBMC).
- 45 La figura 22 ilustra la inhibición del crecimiento tumoral *in vivo* tras la inyección intraperitoneal de diferentes concentraciones de ErbmulFNa4.
- 50 La figura 23 ilustra la inhibición del crecimiento tumoral *in vivo* tras la inyección intraperitoneal de diferentes concentraciones de Erb-(huL10)2.
- La figura 24 ilustra la inhibición dependiente de la dosificación del crecimiento tumoral *in vivo* tras la inyección intratumoral de diferentes concentraciones de Erb-(huL10)2.
- 55 La figura 25 ilustra la comparación de la inhibición de crecimiento tumoral *in vivo* mediante la inyección intraperitoneal de Erb-mulFNa4 y Erb-(huL10)2.
- La figura 26 ilustra la comparación de la regresión tumoral *in vivo* mediante diferentes dosis de Erb-mulFNa4 y Erb-(huL10)2.
- 60 La figura 27 ilustra el efecto de anti-CD4, anti-CD8 y anti-NK1.1 sobre la inhibición de crecimiento tumoral *in vivo* mediante Erb-(huL10)2.
- 65 La figura 28 ilustra los resultados del análisis farmacocinético para el heterodímero Erb-(huL10)2 cuando se inyecta

por vía intravenosa.

La figura 29 ilustra los resultados del análisis farmacocinético para el heterodímero Erb-huIFNa2 en mono Cynomolgus.

La figura 30 ilustra la distribución *in vivo* de Erb-(huL10)2 en ratones.

La figura 31 ilustra una comparación de los efectos antitumorales *in vivo* entre Erb-(huL10)2 y Tmab-(huL10)2 en el modelo de ratón C57BL/6 B16-EGFR.

### Descripción detallada de la divulgación

A menos que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos usados en el presente documento tienen el mismo significado que entiende comúnmente un experto en la técnica a la que pertenece esta divulgación. Aunque pueden usarse métodos y materiales similares o equivalentes a los descritos en el presente documento en la práctica o pruebas de la presente divulgación, a continuación se describen métodos y materiales adecuados. En caso de conflicto, prevalecerá la memoria descriptiva de la patente, incluyendo las definiciones. Además, los materiales, métodos y ejemplos son solo ilustrativos y no pretenden ser limitativos. Ahora se les ocurrirán numerosas variaciones, cambios y sustituciones a los expertos en la técnica sin apartarse de la divulgación.

Las formas singulares “un”, “una” y “el/la”, tal como se usan en el presente documento, incluyen generalmente referencias en plural a menos que el contexto indique claramente lo contrario.

El término “proteínico”, tal como se usa en el presente documento, se refiere generalmente a un material o molécula que es de, está relacionado con, se asemeja o es un polipéptido o una proteína. Por ejemplo, un heterodímero proteínico de la presente divulgación puede ser una proteína de heterodímero o un heterodímero que comprende dos o más polipéptidos.

El término “heterodímero”, tal como se usa en el presente documento, se refiere generalmente a una molécula (por ejemplo, una molécula proteínica) compuesta por dos miembros diferentes. Los dos miembros de un heterodímero pueden diferir en estructura, función, actividad y/o composición. Por ejemplo, los dos miembros diferentes pueden comprender polipéptidos que difieren en el orden, número o tipo de residuos de aminoácidos que forman estos polipéptidos. Cada uno de los dos miembros diferentes de un complejo heterodimérico puede comprender independientemente una, dos o más unidades, cadenas de polipéptido o restos.

El término “resto de direccionamiento”, tal como se usa en el presente documento, se refiere generalmente a una molécula, complejo o agregado, que se une específica, selectiva o preferentemente a una molécula, célula, partícula, tejido o agregado diana. Por ejemplo, un resto de direccionamiento puede ser un anticuerpo, un fragmento de anticuerpo de unión a antígeno, un anticuerpo biespecífico u otra molécula o compuesto basado en anticuerpos. Otros ejemplos de restos de direccionamiento pueden incluir, pero sin limitarse a, aptámeros, avímeros, ligandos de unión al receptor, ácidos nucleicos, pares de unión de biotina-avidina, péptidos o proteínas de unión, etc. Los términos “resto de direccionamiento” y “resto de unión” se usan de manera intercambiable en el presente documento.

El término “antígeno tumoral”, tal como se usa en el presente documento, se refiere generalmente a una sustancia antigénica producida en o por células tumorales, que puede tener la capacidad de desencadenar una respuesta inmunitaria en un huésped. Por ejemplo, un antígeno tumoral puede ser una proteína, un polipéptido, un péptido o un fragmento del mismo, que constituye parte de una célula tumoral y es capaz de inducir linfocitos T citotóxicos específicos de tumor. Un péptido de antígeno tumoral puede ser un péptido que se genera como resultado de la degradación del antígeno tumoral en una célula tumoral y puede inducir o activar linfocitos T citotóxicos específicos de tumor tras expresarse en la superficie celular mediante la unión a una molécula de HLA. En algunas realizaciones, el término “antígeno tumoral” también puede referirse a biomoléculas (por ejemplo, proteínas, hidratos de carbono, glicoproteínas, etc.) que se expresan de manera exclusiva o preferente o diferencial en una célula cancerosa y/o se encuentran en asociación con una célula cancerosa y de ese modo proporcionan dianas preferentes o específicas para el cáncer. Por ejemplo, la expresión preferente puede ser expresión preferente en comparación con cualquier otra célula en el organismo, o expresión preferente dentro de un área particular del organismo (por ejemplo, dentro de un órgano o tejido particular).

Los términos “epítipo de antígeno tumoral” y “determinante de antígeno tumoral” se usan de manera intercambiable en el presente documento y se refieren generalmente al sitio de una secuencia de aminoácidos presente en un antígeno tumoral que induce linfocitos T citotóxicos específicos de tumor.

Los términos “inmunorregulador” e “inmunomodulador” se usan de manera intercambiable en el presente documento, y se refieren generalmente a una sustancia que afecta al funcionamiento del sistema inmunitario. Un inmunorregulador puede aumentar o reducir una respuesta inmunitaria. Por ejemplo, un inmunorregulador puede ser un agente activo de inmunoterapia, incluyendo, pero sin limitarse a, preparaciones recombinantes, sintéticas y/o

naturales de citocinas, factores estimulantes de colonias de granulocitos (G-CSF), interferones, imiquimod, fracciones de membrana celular de bacterias, quimiocinas, interleucinas, oligodesoxinucleótidos de citosina fosfatoguanosina (CpG) y glucanos. En algunos ejemplos, el inmunorregulador es una citocina.

- 5 En algunas realizaciones, el inmunorregulador se selecciona del grupo que consiste en interferón, interleucina, quimiocina, linfocina y factor de necrosis tumoral. Por ejemplo, el inmunorregulador puede seleccionarse del grupo que consiste en interferón alfa, interferón lamda, interferón beta, interleucina 10, interleucina 2 y súper interleucina 2.

10 El término “proteína de membrana”, tal como se usa en el presente documento, se refiere generalmente a una proteína que interacciona con una membrana biológica. Una proteína de membrana puede ser una proteína unida a, o asociada con, la membrana de una célula u orgánulo. Por ejemplo, una proteína de membrana puede ser una proteína de membrana integral, una proteína de membrana periférica o un péptido asociado a la membrana. En algunas realizaciones, una proteína de membrana es un receptor de superficie celular.

15 El término “receptor de superficie celular”, tal como se usa en el presente documento, se refiere generalmente a la proteína de superficie celular que se une a una molécula bioactiva (por ejemplo, un ligando) y media en el efecto del ligando sobre la célula. Un receptor de superficie celular puede ser una proteína unida a la membrana que tiene una estructura de múltiples dominios que comprende un dominio de unión a ligando extracelular y un dominio efector intracelular que está implicado normalmente en la transducción de señales. La unión de un ligando a un receptor  
20 puede dar como resultado un cambio conformacional en el receptor que provoca una interacción entre el dominio efector y otra(s) molécula(s) en la célula. Esta interacción, a su vez, puede conducir a una alteración en el metabolismo de la célula. Los eventos metabólicos que están relacionados con las interacciones receptor-ligando pueden incluir transcripción génica, fosforilación, desfosforilación, aumentos en la producción de AMP cíclico, movilización de calcio celular, movilización de lípidos de membrana, adhesión celular, hidrólisis de lípidos de inositol  
25 e hidrólisis de fosfolípidos.

El término “rendimiento de expresión”, tal como se usa en el contexto de los complejos proteínicos en el presente documento, se refiere generalmente a una cantidad de un heterodímero proteínico que se produce en forma funcional tras la expresión, por ejemplo, cuando se expresa por una célula huésped.

30 El término “secuencia de dimerización”, tal como se usa en el presente documento, se refiere generalmente a una secuencia de aminoácidos capaz de formar un dímero o experimentar dimerización. Un dímero puede ser un homodímero formado por dos miembros idénticos. Un dímero puede ser un heterodímero formado por dos miembros diferentes. En algunos casos, los dos miembros diferentes de un heterodímero pueden comprender secuencias de dimerización idénticas.

El término “secuencia de heterodimerización”, tal como se usa en el presente documento, se refiere generalmente a una secuencia de aminoácidos que da como resultado preferentemente la formación de un heterodímero, o que experimenta heterodimerización.

40 El término “enlace covalente”, tal como se usa en el presente documento, se refiere generalmente a un enlace químico formado entre átomos al compartir electrones. Por ejemplo, un enlace covalente puede ser polar o no polar. En algunas realizaciones, un enlace covalente es un enlace disulfuro.

45 El término “afinidad por parejas no covalente”, tal como se usa en el presente documento, se refiere generalmente a las secuencias de dimerización o secuencias de heterodimerización capaces de unirse entre sí mediante interacción no covalente, por ejemplo, por medio de pares de iones, enlaces de hidrógeno, interacciones dipolo-dipolo, interacciones de transferencia de carga, interacciones  $\pi$ - $\pi$ , interacciones, catión- $\pi$ -electrón, interacciones de van der Waals e interacciones dispersas, interacciones hidrófobas (lipófilas), formación de complejos (por ejemplo, formación  
50 complejos de cationes de metales de transición) o una combinación de estas interacciones.

El término “ligador”, tal como se usa en el presente documento, se refiere generalmente a una secuencia de aminoácidos sintética que conecta o une dos secuencias de polipéptido, por ejemplo, que unen dos dominios de polipéptido. Un ligador puede conectar dos secuencias de aminoácidos por medio de enlaces peptídicos. En algunas  
55 realizaciones, un ligador de la presente divulgación conecta un resto biológicamente activo a un segundo resto en una secuencia lineal.

Los términos “polipéptido”, “péptido” y “proteína” se usan de manera intercambiable en el presente documento para referirse a polímeros de aminoácidos de cualquier longitud. El polímero puede ser lineal o ramificado, puede comprender aminoácidos modificados y puede estar interrumpido por no aminoácidos. Los términos también abarcan un polímero de aminoácidos que se ha modificado, por ejemplo, por formación de enlaces disulfuro, glicosilación, lipidación, acetilación, fosforilación o cualquier otra manipulación, tal como conjugación con un componente de marcaje. Los términos pueden aplicarse a polímeros de aminoácidos en los que uno o más residuos de aminoácidos son un análogo químico artificial de un aminoácido que se produce de manera natural  
60 correspondiente, así como a polímeros de aminoácidos que se producen de manera natural. Los términos también pueden incluir variantes en el enlace peptídico tradicional que une los aminoácidos que constituyen el polipéptido.

Por ejemplo, los “péptidos”, “polipéptidos” y “proteínas” pueden ser cadenas de aminoácidos cuyos carbonos alfa están unidos a través de enlaces peptídicos. Por tanto, el aminoácido terminal en un extremo de la cadena (amino terminal) puede tener un grupo amino libre, mientras que el aminoácido terminal en el otro extremo de la cadena (carboxilo terminal) puede tener un grupo carboxilo libre. Tal como se usa en el presente documento, el término “amino terminal” (extremo N-terminal abreviado) se refiere generalmente al grupo  $\alpha$ -amino libre en un aminoácido en el amino terminal de un péptido o al grupo  $\alpha$ -amino (grupo imino cuando participa en un enlace peptídico) de un aminoácido en cualquier otra ubicación dentro del péptido. De manera similar, el término “carboxilo terminal” se refiere generalmente al grupo carboxilo libre en el extremo carboxilo de un péptido o al grupo carboxilo de un aminoácido en cualquier otra ubicación dentro del péptido. Los péptidos también pueden incluir esencialmente cualquier poliaminoácido incluyendo, pero sin limitarse a, miméticos peptídicos tales como aminoácidos unidos por un éter en contraposición a un enlace amida.

El término “aminoácido”, tal como se usa en el presente documento, se refiere generalmente a aminoácidos naturales y/o no naturales o sintéticos, incluyendo, pero no sin limitarse a, los isómeros ópticos D o L o ambos, análogos de aminoácidos y peptidomiméticos. Se usan códigos convencionales de una o tres letras para designar aminoácidos.

El término “L-aminoácido natural”, tal como se usa en el presente documento, se refiere generalmente a las formas de isómero óptico L de glicina (G), prolina (P), alanina (A), valina (V), leucina (L), isoleucina (I), metionina (M), cisteína (C), fenilalanina (F), tirosina (Y), triptófano (W), histidina (H), lisina (K), arginina (R), glutamina (Q), asparagina (N), ácido glutámico (E), ácido aspártico (D), serina (S) y treonina (T).

El término “que no se produce de manera natural”, tal como se usa en el presente documento, se refiere generalmente a secuencias de polipéptidos o polinucleótidos que no tienen un homólogo, no son complementarias o no tienen un alto grado de homología con una secuencia silvestre o que se produce de manera natural (por ejemplo, las que se encuentran en un sujeto). Por ejemplo, un polipéptido o fragmento que no se produce de manera natural puede compartir menos del 99%, el 98%, el 95%, el 90%, el 80%, del 70%, el 60%, el 50% o incluso menos identidad de secuencia de aminoácidos en comparación con una secuencia natural cuando se alinea adecuadamente. Alternativamente, un polipéptido o fragmento que no se produce de manera natural puede compartir más del 99%, el 98%, el 95%, el 90%, el 80%, el 70%, el 60%, el 50% o incluso más identidad de secuencia de aminoácidos en comparación con una secuencia natural cuando se alinea adecuadamente.

Los términos “hidrófilo” e “hidrófobo”, tal como se usan en el presente documento, se refieren generalmente al grado de afinidad que una sustancia tiene con el agua. Una sustancia hidrófila tiene una fuerte afinidad por el agua, tiende a disolverse, mezclarse con o humedecerse mediante el agua, mientras que una sustancia hidrófoba carece sustancialmente de afinidad por el agua, tiende a repeler y no absorber agua y tiende a no disolverse en o mezclarse con o humedecerse mediante el agua. Los aminoácidos pueden caracterizarse basándose en su hidrofobicidad. Se han desarrollado varias escalas. Un ejemplo es una escala desarrollada por Levitt, M, *et al.*, J Mol Biol (1976) 104:59, que se enumera en Hopp, TP, *et al.*, Proc Natl Acad Sci U S A (1981) 78:3824. Ejemplos de “aminoácidos hidrófilos” son arginina, lisina, treonina, alanina, asparagina y glutamina. De particular interés son los aminoácidos hidrófilos aspartato, glutamato, serina y glicina. Ejemplos de “aminoácidos hidrófobos” son triptófano, tirosina, fenilalanina, metionina, leucina, isoleucina y valina.

El término “fragmento”, cuando se usa en el contexto de una molécula proteínica (por ejemplo, un polipéptido o una proteína), se refiere generalmente a una forma truncada de una proteína nativa biológicamente activa que puede retener o no una porción de la actividad terapéutica y/o biológica.

El término “variante”, cuando se usa en el contexto de una molécula proteínica (por ejemplo, un polipéptido o una proteína), se refiere generalmente a una molécula proteínica con homología de secuencia con la proteína nativa biológicamente activa que retiene al menos una porción de la actividad terapéutica y/o biológica de la proteína biológicamente activa. Por ejemplo, una proteína variante puede compartir al menos el 60%, el 65%, el 70%, el 75%, el 80%, el 85%, el 90%, el 95%, el 96%, el 97%, el 98% o el 99% de identidad de secuencia de aminoácidos en comparación con la proteína de referencia biológicamente activa. En algunas realizaciones, la “variante” puede incluir proteínas modificadas deliberadamente, como, por ejemplo, por mutagénesis dirigida al sitio, síntesis del gen codificante, inserciones o accidentalmente a través de mutaciones.

Los términos “conjugado”, “unido”, “fusionado” y “fusión” se usan de manera intercambiable en el presente documento, y se refieren generalmente a la unión de dos o más elementos químicos, secuencias o componentes, por ejemplo, por medios que incluyen conjugación química o medios recombinantes. Por ejemplo, un promotor o potenciador está operativamente unido a una secuencia codificante si afecta a la transcripción de la secuencia. En general, “operativamente unido” significa que las secuencias de ADN que se unen son contiguas, y en fase de lectura o en marco. Una “fusión en marco” se refiere a la unión de dos o más marcos de lectura abiertos (ORF) para formar un ORF continuo más largo, de una manera que mantiene el marco de lectura correcto de los ORF originales. Por tanto, el “polipéptido de fusión” resultante es una única proteína que contiene dos o más fragmentos que corresponden a polipéptidos codificados por los ORF originales (segmentos que normalmente no están unidos así en la naturaleza). El “sitio de fusión” se refiere a la secuencia donde los dos o más fragmentos se unen entre sí. En

algunos casos, el sitio de fusión puede ser una secuencia que es idéntica a las secuencias en los dos o más fragmentos que se unen. En algunos casos, el sitio de fusión puede comprender además un segmento de separación que no es idéntico a ninguna de las secuencias de los dos o más fragmentos que se unen.

5 En el contexto de los polipéptidos, una “secuencia lineal” o una “secuencia” es un orden de aminoácidos en un polipéptido en una dirección del extremo amino a carboxilo terminal en el que los residuos próximos entre sí en la secuencia son contiguos en la estructura primaria del polipéptido. Una “secuencia parcial” es una secuencia lineal que forma parte de un polipéptido que se sabe que comprende residuos adicionales en una o ambas direcciones.

10 Los términos “polinucleótidos”, “ácidos nucleicos”, “nucleótidos” y “oligonucleótidos” se usan de manera intercambiable en el presente documento, y se refieren generalmente a una forma polimérica de nucleótidos de cualquier longitud, ya sean desoxirribonucleótidos o ribonucleótidos, o análogos de los mismos. Los polinucleótidos pueden tener cualquier estructura tridimensional y pueden realizar cualquier función, conocida o desconocida. Los siguientes son ejemplos no limitativos de polinucleótidos: regiones codificantes o no codificantes de un gen o  
 15 fragmento génico, loci (locus) definidos a partir de análisis de unión, exones, intrones, ARN mensajero (ARNm), ARN de transferencia, ARN ribosómico, ribozimas, ADNc, polinucleótidos recombinantes, polinucleótidos ramificados, plásmidos, vectores, ADN aislado de cualquier secuencia, ARN aislado de cualquier secuencia, sondas de ácido nucleico y cebadores. Un polinucleótido puede comprender nucleótidos modificados, tales como nucleótidos metilados y análogos de nucleótidos. Si están presente, pueden conferirse modificaciones a la estructura de  
 20 nucleótidos antes o después del ensamblaje del polímero. La secuencia de nucleótidos puede estar interrumpida por componentes distintos de nucleótidos. Un polinucleótido puede modificarse adicionalmente después de la polimerización, tal como mediante conjugación con un componente de marcaje.

25 Los términos “gen” y “fragmento génico” se usan de manera intercambiable en el presente documento y se refieren generalmente a un polinucleótido que contiene al menos un marco de lectura abierto que es capaz de codificar para una proteína particular después de transcribirse y traducirse. Un gen o fragmento génico puede ser genómico o ADNc, siempre que el polinucleótido contenga al menos un marco de lectura abierto, que puede cubrir la región codificante completa o un segmento de la misma. Un “gen de fusión” es un gen compuesto por al menos dos polinucleótidos heterólogos que están unidos entre sí.

30 El término “anticuerpo”, tal como se usa en el presente documento, se refiere generalmente a una proteína que comprende uno o más polipéptidos codificados sustancialmente por genes de inmunoglobulina o fragmentos de genes de inmunoglobulina. Los genes de inmunoglobulina pueden incluir los genes de región constante kappa, lambda, alfa, gamma, delta, épsilon y mu, así como innumerables genes de región variable de inmunoglobulina. Tal como se usa en el presente documento, las cadenas ligeras pueden clasificarse como o bien kappa o bien lambda.  
 35 Las cadenas pesadas pueden clasificarse como gamma, mu, alfa, delta o épsilon, que a su vez definen las clases de inmunoglobulina, IgG, IgM, IgA, IgD e IgE, respectivamente. Un anticuerpo como se usa en la presente divulgación puede tener una unidad estructural que comprende un tetrámero. Cada tetrámero puede estar compuesto por dos pares idénticos de cadenas de polipéptido, teniendo cada par una cadena “ligera” (aproximadamente 25 kD) y una  
 40 “pesada” (aproximadamente 50-70 kD). El extremo N-terminal de cada cadena puede definir una región variable de aproximadamente 100 a 110 o más aminoácidos principalmente responsables del reconocimiento de antígeno. Los términos región variable de cadena ligera (VL) y región variable de cadena pesada (VH), tal como se usan en el presente documento, se refieren generalmente a estas regiones de las cadenas ligera y pesada, respectivamente. Los anticuerpos pueden existir como inmunoglobulinas intactas o como varios fragmentos bien caracterizados producidos por digestión con diversas peptidasas o expresados *de novo*. Así, por ejemplo, la pepsina puede digerir un anticuerpo debajo de los enlaces disulfuro en la región bisagra para producir F(ab)<sup>2</sup> (un dímero de Fab que en sí mismo es una cadena ligera unida a VH-CH1 por un enlace disulfuro). El F(ab)<sup>2</sup> puede reducirse en condiciones suaves para romper el enlace disulfuro en la región bisagra convirtiendo de ese modo el dímero (Fab)<sup>2</sup> en un monómero Fab'. El monómero Fab' es esencialmente un Fab con parte de la región bisagra (véase, *Fundamental Immunology*, W. E. Paul, ed., Raven Press, N.Y. (1993), para una descripción más detallada de otros fragmentos de anticuerpos). Aunque diversos fragmentos de anticuerpos se definen en cuanto a la digestión de un anticuerpo intacto, un experto en la materia apreciará que tales fragmentos Fab' pueden sintetizarse *de novo* o bien químicamente o bien utilizando metodología de ADN recombinante. Por tanto, el término anticuerpo, tal como se usa en el presente documento, también puede incluir fragmentos de anticuerpos o bien producidos por la modificación de anticuerpos completos o bien sintetizados *de novo* utilizando metodologías de ADN recombinante, incluyendo, pero sin limitarse a, Fab<sup>2</sup>, IgG, IgM, IgA, IgE, scFv, dAb, nanocuerpos, unicuerpos y diacuerpos. En algunas realizaciones, los anticuerpos incluyen, pero no se limitan a Fab<sup>2</sup>, IgG, IgM, IgA, IgE y anticuerpos de cadena sencilla, por ejemplo, anticuerpos de cadena sencilla Fv (scFv) en los que una cadena pesada variable y una cadena ligera variable se unen entre sí (directamente o a través de un ligador peptídico) para formar un polipéptido continuo.

60 En algunas realizaciones, los anticuerpos y fragmentos en la presente divulgación son biespecíficos. En algunas realizaciones, los anticuerpos biespecíficos o fragmentos de los mismos tienen especificidades de unión para al menos dos epítopos diferentes (por ejemplo, al menos uno de los al menos dos epítopos diferentes es un antígeno asociado a tumor). En algunas realizaciones, los anticuerpos y fragmentos también pueden ser heteroanticuerpos, por ejemplo, podrían ser o podrían comprender dos o más anticuerpos, o fragmentos de unión a anticuerpos (por ejemplo, Fab) unidos entre sí, teniendo cada anticuerpo o fragmento una especificidad diferente.

En algunas realizaciones, los anticuerpos y fragmentos de los mismos usados en el presente documento pueden ser biespecíficos. Los anticuerpos biespecíficos o fragmentos de los mismos pueden ser de diversas configuraciones. Por ejemplo, los anticuerpos biespecíficos pueden parecerse a anticuerpos individuales (o fragmentos de anticuerpos) pero tienen dos sitios de unión a antígeno diferentes (regiones variables). En diversas realizaciones, pueden producirse anticuerpos biespecíficos mediante técnicas químicas (Kranz *et al.* (1981) Proc. Natl. Acad. Sci., EE.UU., 78: 5807), mediante técnicas de "polidoma" (véase, por ejemplo, la patente estadounidense n.º 4.474.893), o por técnicas de ADN recombinante. En algunas realizaciones, los anticuerpos biespecíficos tal como se usan en el presente documento pueden tener especificidades de unión para al menos dos epítomos diferentes y al menos uno de los cuales es un antígeno tumoral. En algunas realizaciones, los anticuerpos y sus fragmentos también pueden ser heteroanticuerpos. Los heteroanticuerpos son dos o más anticuerpos, o fragmentos de unión a anticuerpos (por ejemplo, Fab) unidos entre sí, teniendo cada anticuerpo o fragmento una especificidad diferente.

El término "homología", "homólogo" o "identidad de secuencia", tal como se usa en el presente documento, se refiere generalmente a similitud de secuencia o intercambiabilidad entre dos o más secuencias de polinucleótido o entre dos o más secuencias de polipéptido. Cuando se usa un programa (por ejemplo, Emboss Needle o BestFit) para determinar la identidad, similitud u homología de secuencia entre dos secuencias de aminoácidos diferentes, puede usarse la configuración por defecto, o puede seleccionarse una matriz de puntuación apropiada, tal como blosum45 o blosum80, para optimizar las puntuaciones de identidad, similitud u homología. En algunas realizaciones, los polinucleótidos que son homólogos son los que se hibridan en condiciones rigurosas y tienen al menos el 60%, al menos el 65%, al menos el 70%, al menos el 80%, al menos el 90%, al menos el 95%, al menos el 97%, al menos el 98%, al menos el 99% e incluso el 100% de identidad de secuencia en comparación con esas secuencias. Los polipéptidos que son homólogos tienen identidades de secuencia de al menos el 80%, o al menos el 90%, o al menos el 95%, o al menos el 97%, o al menos el 98%, o tienen al menos el 99% de identidad de secuencia cuando secuencias de longitud comparable se alinean óptimamente.

Los términos "porcentaje de identidad" y "% de identidad", tal como se usan en el contexto de secuencias de polinucleótido, se refieren generalmente al porcentaje de coincidencias de residuos entre al menos dos secuencias de polinucleótido alineadas usando un algoritmo estandarizado. Tal algoritmo puede insertar, de una manera estandarizada y reproducible, huecos en las secuencias que se comparan para optimizar la alineación entre dos secuencias y, por tanto, lograr una comparación más significativa de las dos secuencias. El porcentaje de identidad puede medirse a lo largo de la longitud de una secuencia de polinucleótido definida completa, o puede medirse a lo largo de una longitud más corta, por ejemplo, a lo largo de la longitud de un fragmento tomado de una secuencia de polinucleótido definida más grande. Se entiende que cualquier longitud de fragmento soportada por las secuencias mostradas en el presente documento, en las tablas, figuras o listado de secuencias, puede usarse para describir una longitud a lo largo de la cual puede medirse el porcentaje de identidad.

El término "porcentaje (%) de identidad de secuencia", tal como se usa en el contexto de las secuencias de polipéptido identificadas en el presente documento, se refiere generalmente al porcentaje de residuos de aminoácidos en una secuencia de consulta que son idénticos a los residuos de aminoácidos de una segunda secuencia de polipéptido de referencia o una porción de la misma, después de alinear las secuencias e introducir espacios, si es necesario, para lograr el porcentaje máximo de identidad de secuencia, y sin considerar ninguna sustitución conservativa como parte de la identidad de secuencia. La alineación con el propósito de determinar el porcentaje de identidad de secuencia de aminoácidos puede lograrse de diversas maneras que están dentro de la experiencia en la técnica, por ejemplo, utilizando software informático disponible públicamente tal como BLAST, BLAST-2, ALIGN, NEEDLE o Megalign (DNASTAR). Los expertos en la técnica pueden determinar los parámetros apropiados para medir la alineación, incluidos cualquier algoritmo necesario para lograr la máxima alineación a lo largo de toda la longitud de las secuencias que se comparan. El porcentaje de identidad puede medirse a lo largo de la longitud de una secuencia de polipéptidos definida completa, o puede medirse a lo largo de una longitud más corta, por ejemplo, a lo largo de la longitud de un fragmento tomado de una secuencia de polipéptidos definida más grande. Se entiende que cualquier longitud de fragmento soportada por las secuencias mostradas en el presente documento, en las tablas, figuras o listado de secuencias, puede usarse para describir una longitud a lo largo de la cual puede medirse el porcentaje de identidad.

El término "célula huésped", tal como se usa en el presente documento, incluye generalmente una célula individual, una línea celular o cultivo celular que puede ser o ha sido un receptor para los plásmidos o vectores objetos, comprende el polinucleótido de la presente divulgación o expresa el heterodímero proteínico (por ejemplo, proteína de heterodímero) de la presente divulgación. Las células huésped pueden incluir la progenie de una sola célula huésped. La progenie puede no ser necesariamente idéntica completamente (en morfología o en genómica del complemento de ADN total) a la célula antecesora original debido a mutación natural, accidental o deliberada. Una célula huésped puede incluir células transfectadas *in vitro* con un vector de la presente divulgación. Una célula huésped puede ser una célula bacteriana (por ejemplo, *E. coli*), una célula de levadura u otras células eucariotas, por ejemplo, una célula COS, una célula de ovario de hámster chino (CHO), una célula HeLa o una célula de mieloma. En algunas realizaciones, una célula huésped es una célula de mamífero. En algunas realizaciones, la célula de mamífero es una célula HEK293.

El término “vector”, tal como se usa en el presente documento, se refiere generalmente a una molécula de ácido nucleico capaz de autorreplicarse en un huésped apropiado, que transfiere una molécula de ácido nucleico insertada dentro de y/o entre células huésped. El término puede incluir vectores que funcionan principalmente para la inserción de ADN o ARN en una célula, replicación de vectores que funcionan principalmente para la replicación de ADN o ARN y vectores de expresión que funcionan para la transcripción y/o traducción del ADN o ARN. También se incluyen vectores que proporcionan más de una de las funciones anteriores. Un “vector de expresión” es un polinucleótido que, cuando se introduce en una célula huésped apropiada, puede transcribirse y traducirse dentro de uno(s) polipéptido(s). Un “sistema de expresión” connota habitualmente una célula huésped adecuada que comprende un vector de expresión que puede funcionar para producir un producto de expresión deseado.

El término “cantidad eficaz” o “cantidad terapéuticamente eficaz” se refiere a una cantidad de una composición (por ejemplo, un heterodímero proteínico descrito en el presente documento) que es suficiente para efectuar la aplicación prevista, incluyendo, pero sin limitarse al tratamiento de la enfermedad. La cantidad terapéuticamente eficaz puede variar según la aplicación prevista (por ejemplo, *in vitro* o *in vivo*), o del sujeto y el estado de la enfermedad que está tratándose, por ejemplo, el peso y la edad del sujeto, la gravedad del estado patológico, la forma de administración y similares, que puede determinarlos fácilmente un experto en la técnica. El término también puede aplicarse a una dosis que inducirá una respuesta particular en las células diana, por ejemplo, inducción, proliferación y/o apoptosis de genes diana. La dosis específica variará según los compuestos particulares elegidos, el régimen de dosificación que va a seguirse, si se administra en combinación con otros compuestos, el momento de la administración, el tejido al que se administra y el sistema de administración física en el que se porta.

Los términos “tratamiento” o “tratar”, “paliar” o “mejorar” se usan de manera intercambiable en el presente documento, y se refieren a un enfoque para obtener resultados beneficiosos o deseados incluyendo, pero sin limitarse a un beneficio terapéutico y/o un beneficio profiláctico. Tal como se usa en el presente documento, el beneficio terapéutico se refiere generalmente a la erradicación o la reducción de la gravedad del trastorno subyacente que está tratándose. Además, se logra un beneficio terapéutico con la erradicación, la gravedad reducida o la incidencia reducida de uno o más de los síntomas fisiológicos asociados con el trastorno subyacente, de manera que se observa una mejora en el sujeto, a pesar de que el sujeto todavía puede estar afectado por el trastorno subyacente. Para beneficio profiláctico, las composiciones pueden administrarse a un sujeto en riesgo de desarrollar una enfermedad particular, o a un sujeto que notifica uno o más de los síntomas fisiológicos de una enfermedad, aunque pueda no haberse hecho un diagnóstico de esta enfermedad.

El término “efecto terapéutico”, tal como se usa en el presente documento, abarca generalmente un beneficio terapéutico y/o un beneficio profiláctico tal como se describió anteriormente. Un efecto profiláctico incluye retrasar o eliminar la aparición de una enfermedad o estado, retrasar o eliminar la aparición de síntomas de una enfermedad o estado, retrasar, detener o revertir la progresión de una enfermedad o estado, o cualquier combinación de las mismas.

El término “coadministración”, “administrado en combinación con” y sus equivalentes gramaticales, tal como se usan en el presente documento, abarca generalmente la administración de dos o más agentes a un animal de modo que ambos agentes y/o sus metabolitos estén presentes en el sujeto en el mismo tiempo. La coadministración incluye la administración simultánea en composiciones separadas, la administración en diferentes momentos en composiciones separadas o la administración en una composición en la que ambos agentes están presentes.

Los términos “antagonista” e “inhibidor” se usan de manera intercambiable en el presente documento, y se refieren generalmente a un compuesto que tiene la capacidad de inhibir una función biológica de una proteína diana, ya sea inhibiendo la actividad o la expresión de la proteína diana. Por consiguiente, los términos “antagonista” e “inhibidores” se definen en el contexto del papel biológico de la proteína diana. Aunque los antagonistas preferidos en el presente documento interactúan específicamente con (por ejemplo, se unen a) la diana, compuestos que inhiben una actividad biológica de la proteína diana interactuando con otros miembros de la ruta de transducción de señales de la que es miembro la proteína diana también se incluyen específicamente en esta definición. Una actividad biológica preferida inhibida por un antagonista está asociada con el desarrollo, crecimiento o diseminación de un tumor.

El término “agonista”, tal como se usa en el presente documento, se refiere generalmente a un compuesto que tiene la capacidad de iniciar o potenciar una función biológica de una proteína diana, ya sea inhibiendo o potenciando la actividad o expresión de la proteína diana. Por consiguiente, el término “agonista” se define en el contexto del papel biológico del polipéptido diana. Aunque los agonistas preferidos en el presente documento interactúan específicamente con (por ejemplo, se unen a) la diana, compuestos que inician o potencian una actividad biológica del polipéptido diana interactuando con otros miembros de la ruta de transducción de señales de la que es miembro el polipéptido diana también se incluyen específicamente dentro de esta definición.

El término “agente” o “agente biológicamente activo”, tal como se usa en el presente documento, se refiere generalmente a un compuesto biológico, farmacéutico o químico u otro resto. Los ejemplos no limitativos incluyen una molécula orgánica o inorgánica simple o compleja, un péptido, una proteína, un oligonucleótido, un anticuerpo, un derivado de anticuerpo, un fragmento de anticuerpo, un derivado de vitamina, un hidrato de carbono, una toxina o

un compuesto quimioterápico. Pueden sintetizarse diversos compuestos, por ejemplo, pequeñas moléculas y oligómeros (por ejemplo, oligopéptidos y oligonucleótidos) y compuestos orgánicos sintéticos basados en diversas estructuras centrales. Además, diversas fuentes naturales pueden proporcionar compuestos para el examen, tales como extractos de plantas o animales, y similares.

5 El término “agente anticancerígeno”, “agente antitumoral” o “agente quimioterápico”, tal como se usa en el presente documento, se refiere generalmente a cualquier agente útil en el tratamiento de un estado neoplásico. Una clase de agentes anticancerígenos comprende agentes quimioterápicos.

10 El término “quimioterapia”, tal como se usa en el presente documento, se refiere generalmente a la administración de uno o más fármacos quimioterápicos y/u otros agentes a un paciente con cáncer por diversos métodos, incluyendo intravenoso, oral, intramuscular, intraperitoneal, intravesical, subcutáneo, transdérmico, bucal o inhalación o en forma de un supositorio.

15 El término “proliferación celular”, tal como se usa en el presente documento, se refiere generalmente a un fenómeno por el cual el número de células ha cambiado como resultado de división. Por ejemplo, la proliferación celular puede dar como resultado un aumento en el número de células. Este término también abarca el crecimiento celular por el cual la morfología celular ha cambiado (por ejemplo, aumentado de tamaño) de manera consecuente con una señal proliferativa.

20 El término “*in vivo*”, tal como se usa en el presente documento, se refiere generalmente a un evento que tiene lugar en el cuerpo de un sujeto.

25 El término “*in vitro*”, tal como se usa en el presente documento, se refiere generalmente a un evento que tiene lugar fuera del cuerpo de un sujeto. Por ejemplo, un ensayo *in vitro* abarca cualquier ensayo realizado fuera de un sujeto. Los ensayos *in vitro* abarcan ensayos basados en células en los que se emplean células muertas o vivas. Los ensayos *in vitro* también abarcan un ensayo libre de células en el que se emplean células no intactas.

30 El término “interferón” (IFN), tal como se usa en el presente documento, se refiere generalmente a una proteína de señalización producida y liberada por una célula huésped en respuesta a la presencia de patógenos, tales como virus, bacterias, parásitos o células tumorales. Hay tres tipos principales de interferones, es decir, tipo I, tipo II y tipo III, en los que los interferones de tipo I pueden incluir IFN- $\alpha$  e IFN- $\beta$ , e IFN- $\alpha$  puede comprender además subtipos de IFN- $\alpha$ , por ejemplo, IFN- $\alpha$ 2, IFN- $\alpha$ 4, etc. Los interferones de tipo I pueden inhibir la replicación de virus, tener actividad antiparasitaria, inhibir la proliferación celular, estimular la actividad citotóxica de células inmunitarias, participar en la regulación inmunitaria y presentar efectos antitumorales. Los interferones de tipo II y tipo III pueden incluir IFN- $\gamma$ , IFN- $\lambda$  1 (IL-29), IFN- $\lambda$  2 (IL-28a) e IFN- $\lambda$  3 (IL-28b). Tal como se usa en el presente documento, el término “interferón” puede incluir interferones de longitud completa, o un fragmento (por ejemplo, una forma truncada) o una variante del mismo que mantiene sustancialmente las actividades biológicas de un interferón silvestre correspondiente (por ejemplo, que tiene una actividad biológica que es al menos el 80%, al menos el 90%, al menos el 95%, al menos el 98%, al menos el 99% o incluso al menos el 100% de la actividad biológica de un interferón silvestre correspondiente). Un interferón, tal como se usa en el presente documento, puede ser de cualquier especie de mamífero. En algunas realizaciones, el interferón es de una especie seleccionada del grupo que consiste en ser humano, caballo, vaca, murino, cerdo, conejo, gato, perro, rata, cabra, oveja y primate no humano.

45 El término “interleucina”, tal como se usa en el presente documento, se refiere generalmente a una proteína secretada o una molécula de señalización capaz de promover el desarrollo y la diferenciación de linfocitos T y/o B y/o células hematopoyéticas. Una interleucina puede sintetizarse por linfocitos T CD4 auxiliares, así como a través de monocitos, macrófagos y células endoteliales. Tal como se usa en el presente documento, una interleucina (IL) puede incluir IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-11, IL-12, IL-13, IL-14, IL-15, IL-16, IL-17, IL-18, IL-19, IL-20, IL-21, IL-22, IL-23, IL-24, IL-25, IL-26, IL-27, IL-28, IL-29, IL-30, IL-31, IL-32, IL-33, IL-34, IL-35 y/o IL-36. Tal como se usa en el presente documento, el término “interleucina” puede incluir interleucinas de longitud completa, o un fragmento (por ejemplo, una forma truncada) o una variante de las mismas que mantiene sustancialmente las actividades biológicas de una interleucina silvestre correspondiente (por ejemplo, que tiene una actividad biológica que es al menos el 80%, al menos el 90%, al menos el 95%, al menos el 98%, al menos el 99%, o incluso al menos el 100% de la actividad biológica de una interleucina silvestre correspondiente). Una interleucina, tal como se usa en el presente documento, puede ser de cualquier especie de mamífero. En algunas realizaciones, la interleucina es de una especie seleccionada del grupo que consiste en ser humano, caballo, vaca, murino, cerdo, conejo, gato, perro, rata, cabra, oveja y primate no humano. En algunas realizaciones, la interleucina puede estar en una forma mutada, por ejemplo, con afinidad aumentada o disminuida por sus receptores. En realizaciones específicas, la interleucina puede ser una súper IL-2 (también conocida como sIL2, véase *Nature* 484, 529-533, 26 de abril de 2012), que puede obtenerse modificando IL-2 para aumentar su afinidad de unión por IL-2R $\beta$ . Las mutaciones en sIL-2 están principalmente en el núcleo de la citocina, y las simulaciones de dinámica molecular indicaron que las mutaciones evolucionadas estabilizaron IL-2, reduciendo la flexibilidad de una hélice en el sitio de unión de IL-2R $\beta$ , para dar una conformación de unión a receptor optimizada que se asemeja a cuando se une a

CD25. En comparación con IL-2, sIL-2 indujo una expansión superior de células T citotóxicas, conduciendo a respuestas antitumorales mejoradas *in vivo*, y provocó una expansión proporcionalmente menor de células T reguladoras y redujo el edema pulmonar.

5 El término “anticuerpo”, tal como se usa en el presente documento, se refiere generalmente a una proteína que consiste en uno o más polipéptidos codificados sustancialmente por genes de inmunoglobulina o fragmentos de genes de inmunoglobulina. Los genes de inmunoglobulina reconocidos incluyen los genes de región constante kappa, lambda, alfa, gamma, delta, épsilon y mu, así como diversos genes de región variable de inmunoglobulina. Las cadenas ligeras se clasifican como o bien kappa o bien lambda. Las cadenas pesadas se clasifican como  
10 gamma, mu, alfa, delta o épsilon, que a su vez definen las clases de inmunoglobulina, IgG, IgM, IgA, IgD e IgE, respectivamente.

El término “sitio de unión a antígeno” o “porción de unión”, tal como se usa en el presente documento, se refiere generalmente a una parte de un anticuerpo que participa en la unión al antígeno. Un sitio de unión a antígeno puede estar formado por residuos de aminoácidos de las regiones variables N-terminales (“V”) de una cadena pesada (“H”) y/o una cadena ligera (“L”). Tres tramos altamente divergentes dentro de las regiones V de las cadenas pesada y ligera se denominan “regiones hipervariables”, que se interponen entre tramos flanqueantes más conservados conocidos como “regiones marco” o “FR”. Por tanto, el término “FR”, tal como se usa en el presente documento, se refiere generalmente a secuencias de aminoácidos que se encuentran unidas de manera natural entre y adyacentes  
15 a regiones hipervariables en inmunoglobulinas. En una molécula de anticuerpo, las tres regiones hipervariables de una cadena ligera y las tres regiones hipervariables de una cadena pesada están dispuestas en relación entre sí en un espacio tridimensional para formar una “superficie” de unión a antígeno. Esta superficie puede mediar en el reconocimiento y la unión del antígeno diana. Las tres regiones hipervariables de cada una de las cadenas pesada y ligera se denominan “regiones determinantes de complementariedad” o “CDR” y se caracterizan, por ejemplo, por  
20 Kabat *et al. Sequences of proteins of immunological interest*, 4ª ed. U.S. Dept. Health and Human Services, Public Health Services, Bethesda, Maryland (1987)).

El término “anticuerpo anti-HER2/neu”, tal como se usa en el presente documento, se refiere generalmente a un anticuerpo que se une específica o preferentemente a un receptor HER2/neu. Por ejemplo, un anticuerpo anti-HER2/neu o anticuerpo anti-HER2 podría ser trastuzumab, pertuzumab o fragmentos de unión a antígeno de los mismos.  
30

El término “anticuerpo anti-EGFR”, tal como se usa en el presente documento, se refiere generalmente a un anticuerpo que se une específica o preferentemente a un EGFR. En algunos casos, y el anticuerpo anti-EGFR puede unirse a una forma mutada de EGFR (por ejemplo, la variante III de EGFR (también conocida como EGFRvIII), que es la mutación del dominio extracelular más común de EGFR, esta mutación conduce a la delección de los exones 2-7 del gen de EGFR y hace que el receptor mutante sea incapaz de unirse a ningún ligando conocido). Por ejemplo, un anticuerpo anti-EGFR puede ser cetuximab, Mab806 o fragmentos de unión a antígeno de los mismos.  
35

El término “sujeto”, tal como se usa en el presente documento, se refiere generalmente a un animal humano o no humano, incluyendo, pero sin limitarse limita a, un gato, perro, caballo, cerdo, vaca, oveja, cabra, conejo, ratón, rata o mono.  
40

El término “anticuerpo de la familia anti-EGFR”, tal como se usa en el presente documento, se refiere generalmente a un anticuerpo que se une específicamente a un miembro de la familia de receptor de factor de crecimiento epidérmico. Por ejemplo, puede ser un anticuerpo que se une a ErbB-1 (también denominado receptor de factor de crecimiento epidérmico (EGFR)), ErbB-2 (también denominado HER2 en seres humanos y neu en roedores), ErbB-3 (también denominado HER3) y/o ErbB-4 (también denominado HER4). Los ejemplos de anticuerpos de la familia anti-EGFR incluyen, pero no se limitan a uno o más de los siguientes anticuerpos: C6.5, C6mL3-9, C6 MH3-B1, C6-B1D2, F5, HER3.A5, HER3.F4, HER3.H1, HER3.H3, HER3.E12, HER3.B12, EGFR.E12, EGFR.C10, EGFR.B11, EGFR.E8, HER4.B4, HER4.G4, HER4.F4, HER4.A8, HER4.B6, HER4.D4, HER4.D7, HER4.D11, HER4.D12, HER4.E3, HER4.E7, HER4.F8 y HER4.C7, etc., véanse también, por ejemplo, las publicaciones de patentes estadounidenses US 2006/0099205 A1 y US 2004/0071696 A1.  
45  
50

El término polipéptido de “Fv de cadena sencilla” (“sFv” o “scFv”), tal como se usa en el presente documento, se refiere generalmente a un heterodímero VH (región variable de cadena pesada):VL (región variable de cadena ligera) covalentemente unido, que puede expresarse a partir de un ácido nucleico que incluye secuencias que codifican para VH y VL o bien unidas directamente o bien unidas por un ligador que codifica para péptido. (Véase Huston *et al. Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 85: 5879-5883 (1988)).  
55  
60

El término “inhibición del crecimiento y/o proliferación”, cuando se usa con células cancerosas, se refiere generalmente a la disminución de la tasa de crecimiento y/o tasa de proliferación de una célula cancerosa. Por ejemplo, esto puede incluir la muerte de una célula cancerosa (por ejemplo, por medio de apoptosis). En algunas realizaciones, este término también puede referirse a inhibir el crecimiento y/o la proliferación de un tumor sólido y/o inducir la reducción del tamaño tumoral o la eliminación del tumor.  
65

- 5 El término “un marcador de superficie de célula cancerosa” o “un marcador asociado a célula cancerosa”, tal como se usa en el presente documento, se refiere generalmente a biomoléculas tales como proteínas, hidratos de carbono, glicoproteínas y similares que se expresan exclusiva o preferente o diferencialmente en una célula cancerosa y/o se encuentran asociados con una célula cancerosa y, de ese modo, proporcionan dianas preferentes o específicas para el cáncer. En algunas realizaciones, la expresión preferente puede ser expresión preferente en comparación con cualquier otra célula en el organismo, o expresión preferente dentro de un área particular del organismo (por ejemplo, dentro de un órgano o tejido particular).
- 10 El término “CD20”, tal como se usa en el presente documento, se refiere generalmente a una fosfoproteína no glucosilada expresada en la superficie de las células B maduras (véase, por ejemplo, Cragg *et al.* (2005) *Curr. Dir. Autoimmun.*, 8: 140-174). También puede encontrarse en linfomas de células B, tricoleucemia, leucemia linfocítica crónica de células B en células madre de cáncer de piel/melanoma, etc.
- 15 Complejos proteínicos. Polinucleótidos aislados. Vectores y células huésped
- 20 En un aspecto, la presente divulgación proporciona complejos proteínicos. Un miembro o la parte (1) del complejo comprende una cadena ligera y una cadena pesada complejadas para presentar especificidad de unión por un antígeno tumoral. El otro miembro o la parte (2) del complejo comprende un polipéptido que comprende, desde el extremo N-terminal hasta el extremo C-terminal, uno o más inmunorreguladores fusionados a una región Fc de anticuerpo, opcionalmente por medio de uno o más ligadores. La región Fc de anticuerpo se compleja con la cadena pesada de la parte (1) para formar un heterodímero.
- 25 En algunas realizaciones, la cadena pesada de la parte (1) y la región Fc de anticuerpo comprenden cada una una secuencia de dimerización que media en la heterodimerización de un miembro y el otro miembro para formar el heterodímero. Por ejemplo, la cadena pesada de la parte (1) y la región Fc de anticuerpo pueden comprender cada una una secuencia de aminoácidos capaz de formar un dímero, o experimentar dimerización. Tales dímeros pueden formarse mediante dos secuencias de dimerización idénticas o mediante dos secuencias de dimerización diferentes.
- 30 En algunas realizaciones, la secuencia de dimerización es una secuencia de heterodimerización, en la que se forma un heterodímero por medio de dimerización de dos secuencias de dimerización diferentes. En algunas realizaciones, la secuencia de heterodimerización comprende uno o más residuos para efectuar la heterodimerización por medio de un enlace covalente.
- 35 En algunas realizaciones, cada una de las secuencias de dimerización comprende independientemente una región constante de una inmunoglobulina (por ejemplo, a partir de una inmunoglobulina seleccionada del grupo que consiste en IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4), o una variante de la misma. En algunas realizaciones, la secuencia de dimerización en la cadena pesada de la parte (1) del complejo proteínico y que en la región Fc de anticuerpo comprende cada una una región constante de una inmunoglobulina del mismo subtipo. Por ejemplo, dicha región de
- 40 inmunoglobulina puede comprender una secuencia de aminoácidos tal como se expone en SEQ ID NO:45, SEQ ID NO:46, SEQ ID NO:47, SEQ ID NO:48, o una variante de la misma que comparte una identidad de secuencia de aminoácidos de más del 50%, el 60%, el 70%, el 80%, el 90%, el 95%, el 98%, el 99% o incluso más con la misma.
- 45 En algunas realizaciones, la secuencia de dimerización comprendida en la región Fc de anticuerpo puede ser la de una región constante de inmunoglobulina  $\gamma$  1 (IgG1). En algunas realizaciones, la IgG1 es IgG1 humana. En algunas realizaciones, la secuencia de dimerización comprendida en la región Fc de anticuerpo comprende una mutación puntual, tal como Y349C, T366S, L368A y/o Y407V en posiciones correspondientes a las posiciones 349, 366, 368 y/o 407 de la región constante de IgG1 humana,
- 50 cuando se compara con la secuencia de aminoácidos de la región constante de IgG1 humana.
- 55 En algunas realizaciones, la heterodimerización se efectúa por medio de una afinidad por parejas no covalente de la secuencia de dimerización o heterodimerización contenida en la cadena pesada de la parte (1) y la región Fc de anticuerpo.
- 60 En algunas realizaciones, la región Fc de anticuerpo se fusiona en marco con un inmunorregulador. Por ejemplo, la región Fc de anticuerpo puede fusionarse en marco con el inmunorregulador por medio de un ligador. El ligador puede ser una secuencia de aminoácidos sintética que conecta a uno o dos secuencias de polipéptido, por ejemplo, por medio de enlaces peptídicos. En algunas realizaciones, un ligador es un péptido que comprende 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25 o más aminoácidos. Por ejemplo, el ligador puede comprender 1-10 aminoácidos (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más aminoácidos), 1-15 aminoácidos (por ejemplo, 1-11, 12, 13, 14, 15 aminoácidos), 1-20 aminoácidos, 1-30 aminoácidos o más. En algunas realizaciones, el ligador comprende una secuencia de aminoácidos tal como se expone en SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 78 o SEQ ID NO: 79. En algunas realizaciones, el ligador es resistente a la proteólisis o sustancialmente resistente a la proteólisis.
- 65 En algunas realizaciones, la proteína de fusión de la parte (2) del complejo proteínico comprende dos o más (por

ejemplo, 2, 3, 4, 5 o más) inmunorreguladores fusionados en marco entre sí y con la región Fc de anticuerpo (por ejemplo, como en Erb-(huIL10)2, Tmab-(huIL10)2, Mab806-(huIL10)2 o Pmab-(huIL10)2). Por ejemplo, los dos o más inmunorreguladores pueden fusionarse en marco entre sí y/o con la región Fc de anticuerpo por medio de un ligador. El ligador puede ser una secuencia de aminoácidos sintética que conecta o une dos secuencias de polipéptido, por ejemplo, por medio de enlaces peptídicos. En algunas realizaciones, un ligador es un péptido que comprende, por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25 o más aminoácidos. Los dos o más inmunorreguladores pueden ser del mismo tipo o pueden ser de tipos diferentes. Por ejemplo, los dos o más inmunorreguladores pueden ser dos o más IL10, o pueden ser uno o más interferones y una o más interleucinas. En algunas realizaciones, uno o más de los dos o más inmunorreguladores pueden seleccionarse de cualquiera de los inmunorreguladores descritos en otra parte en la presente divulgación.

En algunas realizaciones, la cadena pesada y la cadena ligera de la parte (1) del complejo proteínico se unen específicamente a un antígeno tumoral que es una proteína de membrana. En algunas realizaciones, la cadena pesada y la cadena ligera de la parte (1) del complejo proteínico se unen específicamente a un antígeno tumoral que es un receptor de superficie celular. Por ejemplo, el receptor de superficie celular puede seleccionarse del grupo que consiste en receptor de factor de crecimiento transformante (TGFR), receptor de factor de crecimiento epidérmico (EGFR), receptor de factor de crecimiento similar a la insulina (IGFR), receptor de factor de crecimiento de fibroblastos (FGFR), receptor de heregulina, receptor de factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGFR), receptor de factor de crecimiento endotelial vascular (VEGFR) y receptor de factor inducible por hipoxia (HIFR).

En algunas realizaciones, la cadena pesada y la cadena ligera de la parte (1) del complejo proteínico se unen específicamente a un antígeno tumoral que es un factor de crecimiento, hormona o una molécula de la matriz extracelular. Por ejemplo, el factor de crecimiento, hormona o molécula de la matriz extracelular puede seleccionarse del grupo que consiste en factor de crecimiento transformante (TGF), factor de crecimiento epidérmico (EGF), factor de crecimiento similar a la insulina (IGF), factor de crecimiento de fibroblastos (FGF), heregulina, factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF), factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), factor inducible por hipoxia (HIF), c-Met, gonadotropina coriónica humana, hormona liberadora de gonadotropina, andrógeno, estrógeno, hormona estimulante del tiroides, hormona folículoestimulante, hormona luteinizante, prolactina, hormona del crecimiento, hormona adrenocorticotropa, hormona antidiurética, oxitocina, hormona liberadora de tiotropina, hormona liberadora de hormona del crecimiento, hormona liberadora de corticotropina, somatostatina, dopamina, melatonina, tiroxina, calcitonina, hormona paratiroidea, glucocorticoides, mineralocorticoides, adrenalina, noradrenalina, progesterona, insulina, glucagón, amilina, eritropoyetina, calcitriol, calciferol, péptido natriurético auricular, gastrina, secretina, colecistocinina, neuropéptido Y, grelina, PYY3-36, leptina, trombopoyetina, angiotensinógeno, IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-11, IL-12, IL-13, IL-14, IL-15, IL-16, IL-17, IL-18, IL-19, IL-20, IL-21, IL-22, IL-23, IL-24, IL-25, IL-26, IL-27, IL-28, IL-29, IL-30, IL-31, IL-32, IL-33, IL-34, IL-35, IL-36, colágeno, elastina, biglicano, decorina, lumicano, versicano, perlecano, proteína C-reactiva, ApoE y lamininas.

En algunas realizaciones, la cadena pesada y la cadena ligera de la parte (1) del complejo proteínico se unen específicamente a un antígeno tumoral seleccionado del grupo que consiste en mutante de EGFR (por ejemplo, variante III de EGFR), HER2/neu, HER3, HER4, CD4, CD19, CD20, CD22, CD29b, CD30, CD33, CD37, CD38, CD52, CD70, CD79b, CD123, CD138, CD200, CD276, CXCR3, CXCR5, CCR3, CCR4, CCR9, CRTH2, PMCH, endoplasmina, CS1, CEA, mesotelina, G250, MUC1, MUC16, PSMA, ADAM17, EPCAM, EphA2, MCSP, GPA33, NAPI2b, STEAP1, CEACAM1, CEACAM5, GPNMB y TROP. Por ejemplo, la cadena pesada y la cadena ligera de la parte (1) del complejo proteínico pueden unirse específicamente a EGFR, un mutante de EGFR (por ejemplo, variante III de EGFR) o HER2/neu.

En algunas realizaciones, la cadena ligera de la parte (1) del complejo proteínico contiene regiones determinantes de complementariedad (por ejemplo, CDR1, CDR2 y/o CDR3) que comprenden una secuencia de aminoácidos que es al menos el 60%, el 70%, el 75%, el 80%, el 85%, el 90%, el 95%, el 96%, el 97%, el 98%, el 99% o el 100% idéntica a la comprendida en las CDR correspondientes (por ejemplo, CDR1, CDR2 y/o CDR3 correspondientes) de una cadena ligera de un anticuerpo específicamente dirigido a un antígeno tumoral. En algunas realizaciones, la identidad es de al menos el 80% o al menos el 90%. El antígeno tumoral puede ser cualquiera de los definidos o enumerados en la presente divulgación. En algunas realizaciones, el anticuerpo específicamente dirigido a un antígeno tumoral es anti-EGFR (por ejemplo, cetuximab), anti-mutante de EGFR (por ejemplo, anti-variante III de EGFR, por ejemplo, Mab806) o anti-HER2 (por ejemplo, trastuzumab o pertuzumab). Por ejemplo, la secuencia de aminoácidos comprendida en las CDR de una cadena ligera de un anticuerpo específicamente dirigido a un antígeno tumoral puede seleccionarse del grupo que consiste en SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 72 y SEQ ID NO: 73.

En algunas realizaciones, la cadena ligera de la parte (1) del complejo proteínico contiene una región variable que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos el 60%, el 70%, el 75%, el 80%, el 85%, el 90%, el 95%, el 96%, el 97%, el 98%, el 99% o el 100% idéntica a la comprendida en una región variable de una cadena ligera de un anticuerpo específicamente dirigido a un antígeno tumoral. En algunas realizaciones, la identidad es de al menos el 80% o al menos 90%. El antígeno tumoral puede ser cualquiera de los definidos o enumerados en la presente divulgación. En algunas realizaciones, el anticuerpo específicamente dirigido a un antígeno tumoral se selecciona de

anti-EGFR (por ejemplo, cetuximab), anti-mutante de EGFR (por ejemplo, anti-variante III de EGFR, por ejemplo, Mab806) o anti-HER2 (por ejemplo, trastuzumab o pertuzumab). Por ejemplo, la secuencia de aminoácidos comprendida en una región variable de una cadena ligera de un anticuerpo específicamente dirigido a un antígeno tumoral puede seleccionarse de un grupo que consiste en: SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 58 y SEQ ID NO: 69.

En algunas realizaciones, la cadena ligera de la parte (1) del complejo proteínico comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos el 60%, el 70%, el 75%, el 80%, el 85%, el 90%, el 95%, el 96%, el 97%, el 98%, el 99% o el 100% idéntica a la comprendida en una cadena ligera de un anticuerpo específicamente dirigido a un antígeno tumoral. En algunas realizaciones, la identidad es de al menos el 80% o al menos el 90%. El antígeno tumoral puede ser cualquiera de los definidos o enumerados en la presente divulgación. En algunas realizaciones, el anticuerpo específicamente dirigido a un antígeno tumoral puede ser anti-EGFR (por ejemplo, cetuximab), anti-mutante de EGFR (por ejemplo, anti-variante III de EGFR, por ejemplo, Mab806) o anti-HER2 (por ejemplo, trastuzumab o pertuzumab). Por ejemplo, la secuencia de aminoácidos comprendida en una cadena ligera de un anticuerpo específicamente dirigido a un antígeno tumoral puede seleccionarse de un grupo que consiste en: SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 55 y SEQ ID NO: 65.

En algunas realizaciones, la cadena pesada de la parte (1) del complejo proteínico puede contener CDR que comprenden una secuencia de aminoácidos que es al menos el 60%, el 70%, el 75%, el 80%, el 85%, el 90%, el 95%, el 96%, el 97%, el 98%, el 99% o el 100% idéntica a la comprendida en CDR correspondientes de una cadena pesada de un anticuerpo específicamente dirigido a un antígeno tumoral. En algunas realizaciones, la identidad es de al menos el 80% o al menos el 90%. El antígeno tumoral puede ser cualquiera de los definidos o enumerados en la presente divulgación. En algunas realizaciones, el anticuerpo específicamente dirigido a un antígeno tumoral es anti-EGFR (por ejemplo, cetuximab), anti-mutante de EGFR (por ejemplo, anti-variante III de EGFR, por ejemplo, Mab806) o anti-HER2 (por ejemplo, trastuzumab o pertuzumab). Por ejemplo, la secuencia de aminoácidos comprendida en las CDR de una cadena pesada de un anticuerpo específicamente dirigido a un antígeno tumoral puede seleccionarse del grupo que consiste en SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 74, SEQ ID NO: 75 y SEQ ID NO: 76.

En algunas realizaciones, la cadena pesada de la parte (1) del complejo proteínico contiene una región variable que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos el 60%, el 70%, el 75%, el 80%, el 85%, el 90%, el 95%, el 96%, el 97%, el 98%, el 99% o el 100% idéntica a la comprendida en una región variable de una cadena pesada de un anticuerpo específicamente dirigido a un antígeno tumoral. En algunas realizaciones, la identidad es de al menos el 80% o al menos el 90%. El antígeno tumoral puede ser cualquiera de los definidos o enumerados en la presente divulgación. En algunas realizaciones, el anticuerpo específicamente dirigido a un antígeno tumoral es anti-EGFR (por ejemplo, cetuximab), anti-mutante de EGFR (por ejemplo, anti-variante III de EGFR, por ejemplo, Mab806) o anti-HER2 (por ejemplo, trastuzumab o pertuzumab). Por ejemplo, la secuencia de aminoácidos comprendida en una región variable de una cadena pesada de un anticuerpo específicamente dirigido a un antígeno tumoral puede seleccionarse de un grupo que consiste en: SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 57 y SEQ ID NO: 70.

En algunas realizaciones, la cadena pesada de la parte (1) del complejo proteínico comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos el 60%, el 70%, el 75%, el 80%, el 85%, el 90%, el 95%, el 96%, el 97%, el 98%, el 99% o el 100% idéntica a la comprendida en una cadena pesada de un anticuerpo específicamente dirigido a un antígeno tumoral. En algunas realizaciones, la identidad es de al menos el 80% o al menos el 90%. El antígeno tumoral puede ser cualquiera de los definidos o enumerados en la presente divulgación. En algunas realizaciones, el anticuerpo específicamente dirigido a un antígeno tumoral es anti-EGFR (por ejemplo, cetuximab), anti-mutante de EGFR (por ejemplo, anti-variante III de EGFR, por ejemplo, Mab806) o anti-HER2 (por ejemplo, trastuzumab o pertuzumab). Por ejemplo, la secuencia de aminoácidos comprendida en una cadena pesada de un anticuerpo específicamente dirigido a un antígeno tumoral puede seleccionarse de un grupo que consiste en: SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 53 y SEQ ID NO: 67.

En algunas realizaciones, la cadena ligera de la parte (1) del complejo proteínico contiene CDR que comprenden una secuencia de aminoácidos que es al menos el 60%, el 70%, el 75%, el 80%, el 85%, el 90%, el 95%, el 96%, el 97%, el 98%, el 99% o el 100% idéntica a la comprendida en CDR correspondientes de una cadena ligera de un anticuerpo específicamente dirigido a un antígeno tumoral; y la cadena pesada de la parte (1) del complejo proteínico contiene CDR que comprenden una secuencia de aminoácidos que es al menos el 60%, el 70%, el 75%, el 80%, el 85%, el 90%, el 95%, el 96%, el 97%, el 98%, el 99% o el 100% idéntica a la comprendida en CDR correspondientes de una cadena pesada del mismo anticuerpo específicamente dirigido a un antígeno tumoral. En algunas realizaciones, la identidad es de al menos el 80% o al menos el 90%. El antígeno tumoral puede ser cualquiera de los definidos o enumerados en la presente divulgación. En algunas realizaciones, el anticuerpo específicamente dirigido a un antígeno tumoral es anti-EGFR (por ejemplo, cetuximab), anti-mutante de EGFR (por ejemplo, anti-variante III de EGFR, por ejemplo, Mab806) o anti-HER2 (por ejemplo, trastuzumab o pertuzumab). Por ejemplo, la secuencia de aminoácidos comprendida en CDR de una cadena ligera de un anticuerpo específicamente dirigido a un antígeno tumoral puede seleccionarse del grupo que consiste en SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 32 y

5 SEQ ID NO: 33, y la secuencia de aminoácidos comprendida en CDR de una cadena pesada del mismo anticuerpo específicamente dirigido a un antígeno tumoral puede seleccionarse del grupo que consiste en SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 35, y SEQ ID NO: 36. En otro ejemplo, la secuencia de aminoácidos comprendida en las CDR de una cadena ligera de un anticuerpo específicamente dirigido a un antígeno tumoral puede seleccionarse del grupo que consiste en SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 40 y SEQ ID NO: 41, y la secuencia de aminoácidos comprendida en las CDR de una cadena pesada del anticuerpo específicamente dirigido a un antígeno tumoral puede seleccionarse del grupo que consiste en SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 43 y SEQ ID NO: 44. En un ejemplo adicional, la secuencia de aminoácidos comprendida en las CDR de una cadena ligera de un anticuerpo específicamente dirigido a un antígeno tumoral puede seleccionarse del grupo que consiste en SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 63 y SEQ ID NO: 64, y la secuencia de aminoácidos comprendida en las CDR de una cadena pesada del mismo anticuerpo específicamente dirigido a un antígeno tumoral puede seleccionarse del grupo que consiste en SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 60 y SEQ ID NO: 61. En otro ejemplo, la secuencia de aminoácidos comprendida en las CDR de una cadena ligera de un anticuerpo específicamente dirigido a un antígeno tumoral puede seleccionarse del grupo que consiste en SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 72 y SEQ ID NO: 73, y la secuencia de aminoácidos comprendida en las CDR de una cadena pesada del mismo anticuerpo específicamente dirigido a un antígeno tumoral puede seleccionarse del grupo que consiste en SEQ ID NO: 74, SEQ ID NO: 75 y SEQ ID NO: 76.

20 En algunas realizaciones, la cadena ligera de la parte (1) del complejo proteínico puede contener una región variable que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos el 60%, el 70%, el 75%, el 80%, el 85%, el 90%, el 95%, el 96%, el 97%, el 98%, el 99% o el 100% idéntica a la comprendida en una región variable de una cadena ligera de un anticuerpo específicamente dirigido a un antígeno tumoral; y la cadena pesada de la parte (1) del complejo proteínico contiene una región variable que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos el 60%, el 70%, el 75%, el 80%, el 85%, el 90%, el 95%, el 96%, el 97%, el 98%, el 99% o el 100% idéntica a la comprendida en una región variable de una cadena pesada del mismo anticuerpo específicamente dirigido a un antígeno tumoral. En algunas realizaciones, la identidad es de al menos el 80% o al menos el 90%. El antígeno tumoral puede ser cualquiera de los definidos o enumerados en la presente divulgación. En algunas realizaciones, el anticuerpo específicamente dirigido a un antígeno tumoral puede ser anti-EGFR (por ejemplo, cetuximab), anti-mutante de EGFR (por ejemplo, anti-variante III de EGFR, por ejemplo, Mab806) o anti-HER2 (por ejemplo, trastuzumab o pertuzumab). Por ejemplo, la secuencia de aminoácidos comprendida en una región variable de una cadena ligera de un anticuerpo específicamente dirigido a un antígeno tumoral puede ser tal como se expone en SEQ ID NO: 29, y la secuencia de aminoácidos comprendida en una región variable de una cadena pesada del mismo anticuerpo específicamente dirigido a un antígeno tumoral puede ser tal como se expone en SEQ ID NO: 30. En otro ejemplo, la secuencia de aminoácidos comprendida en una región variable de una cadena ligera de un anticuerpo específicamente dirigido a un antígeno tumoral puede ser tal como se expone en SEQ ID NO: 37, y la secuencia de aminoácidos comprendida en una región variable de una cadena pesada del mismo anticuerpo específicamente dirigido a un antígeno tumoral puede ser tal como se expone en SEQ ID NO: 38. En un ejemplo adicional, la secuencia de aminoácidos comprendida en una región variable de una cadena ligera de un anticuerpo específicamente dirigido a un antígeno tumoral puede ser tal como se expone en SEQ ID NO: 58, y la secuencia de aminoácidos comprendida en una región variable de una cadena pesada del mismo anticuerpo específicamente dirigido a un antígeno tumoral puede ser tal como se expone en SEQ ID NO: 57. En otro ejemplo, la secuencia de aminoácidos comprendida en una región variable de una cadena ligera de un anticuerpo específicamente dirigido a un antígeno tumoral puede ser tal como se expone en SEQ ID NO: 69, y la secuencia de aminoácidos comprendida en una región variable de una cadena pesada del mismo anticuerpo específicamente dirigido a un antígeno tumoral puede ser tal como se expone en SEQ ID NO: 70.

45 En algunas realizaciones, la cadena ligera de la parte (1) del complejo proteínico contiene una secuencia de aminoácidos que es al menos el 60%, el 70%, el 75%, el 80%, el 85%, el 90%, el 95%, el 96%, el 97%, el 98%, el 99% o el 100% idéntica a la comprendida en una cadena ligera de un anticuerpo específicamente dirigido a un antígeno tumoral; y la cadena pesada de la parte (1) del complejo proteínico contiene una secuencia de aminoácidos que es al menos el 60%, el 70%, el 75%, el 80%, el 85%, el 90%, el 95%, el 96%, el 97%, el 98%, el 99% o el 100% idéntica a la comprendida en una cadena pesada del mismo anticuerpo específicamente dirigido a un antígeno tumoral. En algunas realizaciones, la identidad es de al menos el 80% o al menos el 90%. El antígeno tumoral puede ser cualquiera de los definidos o enumerados en la presente divulgación. En algunas realizaciones, el anticuerpo específicamente dirigido a un antígeno tumoral es anti-EGFR (por ejemplo, cetuximab), anti-mutante de EGFR (por ejemplo, anti-variante III de EGFR, por ejemplo, Mab806) o anti-HER2 (por ejemplo, trastuzumab o pertuzumab). Por ejemplo, la secuencia de aminoácidos comprendida en una cadena ligera de un anticuerpo específicamente dirigido a un antígeno tumoral puede ser tal como se expone en SEQ ID NO: 11, y la secuencia de aminoácidos comprendida en una cadena pesada de un anticuerpo específicamente dirigido a un antígeno tumoral puede ser tal como se expone en SEQ ID NO: 13. En otro ejemplo, la secuencia de aminoácidos comprendida en una cadena ligera de un anticuerpo específicamente dirigido a un antígeno tumoral puede ser tal como se expone en SEQ ID NO: 15, y la secuencia de aminoácidos comprendida en una cadena pesada de un anticuerpo específicamente dirigido a un antígeno tumoral puede ser tal como se expone en SEQ ID NO: 17. En un ejemplo adicional, la secuencia de aminoácidos comprendida en una cadena ligera de un anticuerpo específicamente dirigido a un antígeno tumoral puede ser tal como se expone en SEQ ID NO: 55, y la secuencia de aminoácidos comprendida en una cadena pesada de un anticuerpo específicamente dirigido a un antígeno tumoral puede ser tal como se expone en SEQ ID NO: 53. En otro ejemplo, la secuencia de aminoácidos comprendida en una cadena ligera de un

anticuerpo específicamente dirigido a un antígeno tumoral puede ser tal como se expone en SEQ ID NO: 65, y la secuencia de aminoácidos comprendida en una cadena pesada de un anticuerpo específicamente dirigido a un antígeno tumoral puede ser tal como se expone en SEQ ID NO: 67.

5 En algunas realizaciones, el anticuerpo específicamente dirigido a un antígeno tumoral es un anticuerpo seleccionado del grupo que consiste en anticuerpo anti-HER2/neu, anti-HER3, anti-HER4, anti-CD4, anti-CD19, anti-CD20, anti-CD22, anti-CD29b, anti-CD30, anti-CD33, anti-CD37, anti-CD38, anti-CD52, anti-CD70, anti-CD79b, anti-CD123, anti-CD138, anti-CD200, anti-CD276, anti-CXCR3, anti-CXCR5, anti-CCR3, anti-CCR4, anti-CCR9, anti-CRTH2, anti-PMCH, anti-endoplasmina, anti-VEGFR, anti-PDGFR, anti-CSI, anti-CEA, anti-mesotelina, anti-G250, anti-MUC1, anti-MUC16, anti-PSMA, anti-ADAM17, anti-EPCAM, anti-EphA2, anti-MCSP, anti-GPA33, anti-NAPi2b, anti-STEAPI, anti-CEACAM1, anti-CEACAM5, anti-GPNMB, anti-TROP, anti-TFGR, anti-EGFR, anti-IGFR, anti-FGFR, anti-HIFR, anti-receptor de heregulina, anti-VEGF, anti-TGF, anti-EGF, anti-IGF, anti-FGF, anti-heregulina, anti-PDGF, anti-HIF, anti-c-Met, anti-gonadotropina coriónica humana, anti-hormona liberadora de gonadotropina, anti-andrógeno, anti-estrógeno, anti-hormona estimulante del tiroides, anti-hormona foliculoestimulante, anti-hormona luteinizante, anti-prolactina, anti-hormona del crecimiento, anti-hormona adrenocorticotropa, anti-hormona antidiurética, anti-oxitocina, anti-hormona liberadora de tiotropina, anti-hormona liberadora de hormona del crecimiento, anti-hormona liberadora de corticotropina, anti-somatostatina, anti-dopamina, anti-melatonina, anti-tiroxina, anti-calcitonina, anti-hormona paratiroidea, anti-glucocorticoides, anti-mineralocorticoides, anti-adrenalina, anti-noradrenalina, anti-progesterona, anti-insulina, anti-glucagón, anti-amilina, anti-eritropoyetina, anti-calcitriol, anti-calciferol, anti-péptido natriurético auricular, anti-gastrina, anti-secretina, anti-colecistocina, anti-neuropéptido Y, anti-grelina, anti-PYY3-36, anti-leptina, anti-trombopoyetina, anti-angiotensinógeno, anti-IL-1, anti-IL-2, anti-IL-3, anti-IL-4, anti-IL-5, anti-IL-6, anti-IL-7, anti-IL-8, anti-IL-9, anti-IL-10, anti-IL-11, anti-IL-12, anti-IL-13, anti-IL-14, anti-IL-15, anti-IL-16, anti-IL-17, anti-IL-18, anti-IL-19, anti-IL-20, anti-IL-21, anti-IL-22, anti-IL-23, anti-IL-24, anti-IL-25, anti-IL-26, anti-IL-27, anti-IL-28, anti-IL-29, anti-IL-30, anti-IL-31, anti-IL-32, anti-IL-33, anti-IL-34, anti-IL-35, anti-IL-36, anti-colágeno, anti-elastina, anti-biglicano, anti-decorina, anti-lumicano, anti-versicano, anti-perlecana, anti-proteína C-reactiva, anti-ApoE y anti-laminina. Por ejemplo, el anticuerpo específicamente dirigido a un antígeno tumoral puede ser anti-EGFR, anti-mutante de EGFR (por ejemplo, anti-variante III de EGFR) o anti-HER2.

30 En algunas realizaciones, el inmunorregulador aumenta una respuesta inmunitaria. Los ejemplos de inmunorreguladores capaces de aumentar una respuesta inmunitaria incluyen, sin limitación, IL-2, IFN $\alpha$ , IFN $\beta$ , IFN $\gamma$ , IFN $\lambda$ , factor de necrosis tumoral (TNF)  $\alpha$ , IL-12 e IL-10.

35 En algunas realizaciones, el inmunorregulador reduce una respuesta inmunitaria. Los ejemplos no limitativos de inmunorreguladores capaces de reducir una respuesta inmunitaria incluyen IL-10 y factor de crecimiento transformante (TGF)- $\beta$ .

40 En algunas realizaciones, el inmunorregulador es una citocina. Por ejemplo, el inmunorregulador puede ser una citocina seleccionada del grupo que consiste en interferón, interleucina, quimiocina, linfocina y factor de necrosis tumoral. En algunas realizaciones, el inmunorregulador es interferón alfa, interferón lamda o interferón beta. En algunas realizaciones, el inmunorregulador es interleucina 10, interleucina 2 o súper interleucina 2.

45 En algunas realizaciones, el complejo proteínico de la presente divulgación presenta un rendimiento de expresión que es al menos 2 veces mayor que el de una proteína de control correspondiente cuando se expresa en una célula huésped. Por ejemplo, el complejo proteínico de la presente divulgación puede presentar un rendimiento de expresión que es al menos 3 veces, al menos 4 veces, al menos 5 veces, al menos 6 veces, al menos 7 veces, al menos 8 veces, al menos 9 veces, al menos 10 veces, al menos 11 veces, al menos 12 veces, al menos 13 veces, al menos 14 veces, al menos 15 veces, al menos 16 veces, al menos 17 veces o más mayor que el de una proteína de control correspondiente. La célula huésped puede ser una célula vegetal, una célula de mamífero, una célula de insecto o una célula bacteriana. En algunas realizaciones, la célula huésped es una célula de mamífero. En algunas realizaciones, la célula huésped es una célula HEK293. La proteína de control puede comprender un dímero de dos miembros, y cada miembro puede comprender una cadena ligera y una cadena pesada que forman un resto de direccionamiento que se une específicamente a un antígeno tumoral. Por ejemplo, el antígeno tumoral puede ser idéntico al que se unen la cadena pesada y la cadena ligera de la parte (1) comprendida en el complejo proteínico. En algunas realizaciones, la cadena pesada de cada miembro de la proteína de control comprende además un inmunorregulador en su extremo C-terminal. Por ejemplo, el inmunorregulador puede ser idéntico al comprendido en el complejo proteínico.

60 En algunas realizaciones, el complejo proteínico de la presente divulgación presenta una semivida *in vivo* que es al menos 2 veces mayor que la de una proteína de control correspondiente cuando se expresa en, o se administra a, un sujeto. Por ejemplo, el heterodímero proteínico de la presente divulgación puede presentar una semivida *in vivo* que es al menos 3 veces, al menos 4 veces, al menos 5 veces, al menos 6 veces, al menos 7 veces o más más prolongada que la de una proteína de control correspondiente cuando se expresa en, o se administra a, un sujeto. El sujeto puede ser un mamífero, tal como un roedor (por ejemplo, un ratón, un conejo o una rata), un animal doméstico (por ejemplo, un gato, un cerdo, un perro, una res, un caballo o una oveja), un animal salvaje en la naturaleza (por ejemplo, un ciervo, un zorro, un lobo o un linco), o un primate (por ejemplo, un mono o un ser humano). La proteína de control puede comprender un dímero de dos miembros, y cada miembro puede

comprender una cadena ligera y una cadena pesada que forman un resto de direccionamiento que se une específicamente a un antígeno tumoral. Por ejemplo, el antígeno tumoral puede ser idéntico al que se une el resto de direccionamiento comprendido en el complejo proteínico. En algunas realizaciones, la cadena pesada de cada miembro comprende además un inmunorregulador en su extremo C-terminal. Por ejemplo, el inmunorregulador puede ser idéntico al comprendido en el complejo proteínico.

En algunas realizaciones, la presente divulgación proporciona una proteína de heterodímero, que comprende un primer miembro (por ejemplo, un polipéptido) y un segundo miembro (por ejemplo, un polipéptido) diferente de dicho primer miembro. El primer miembro puede comprender una cadena pesada y una cadena ligera capaces de unirse a un antígeno asociado a tumor, un marcador de superficie de célula cancerosa o un marcador asociado a célula cancerosa. El segundo miembro puede comprender una región Fc de una inmunoglobulina y un interferón, una interleucina o cualquier otro inmunorregulador.

En algunas realizaciones, la región Fc de la inmunoglobulina está químicamente acoplada al interferón, la interleucina o dicho cualquier otro inmunorregulador. Por ejemplo, podrían acoplarse con un ligador. El ligador puede ser un ligador polipeptídico, que puede comprender de varios a decenas de aminoácidos. Por ejemplo, el ligador puede comprender 1-10 aminoácidos (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más aminoácidos), 1-15 aminoácidos (por ejemplo, 1-11, 12, 13, 14, 15 aminoácidos), 1-20 aminoácidos, 1-30 aminoácidos o más. En algunas realizaciones, el ligador puede comprender una secuencia de aminoácidos tal como se expone en SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 78 o SEQ ID NO: 79. En algunas realizaciones, el ligador es resistencia a la proteólisis o sustancialmente resistente a la proteólisis.

Los ejemplos de inmunorregulador incluyen, pero no se limitan a, preparaciones recombinantes, sintéticas y/o naturales de citocinas, factores estimulantes de colonias de granulocitos (G-CSF), interferones, linfoquinas, factores de necrosis tumoral, imiquimod, fracciones de membrana celular de bacterias, quimiocinas, interleucinas, oligodesoxinucleótidos de citosina fosfato-guanosina (CpG) y glucanos. En algunas realizaciones, el interferón se selecciona del grupo que consiste en interferón de tipo I, interferón de tipo II e interferón de tipo III, por ejemplo, interferón  $\alpha$ , interferón  $\beta$  o interferón  $\lambda$ . Por ejemplo, el interferón puede ser interferón  $\beta$  de ratón, interferón  $\beta$  humano, interferón  $\alpha 4$  de ratón, interferón  $\alpha 2$  humano o interferón  $\lambda$  humano. En algunas realizaciones, la interleucina se selecciona del grupo que consiste en IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-11, IL-12, IL-13, IL-14, IL-15, IL-16, IL-17, IL-18, IL-19, IL-20, IL-21, IL-22, IL-23, IL-24, IL-25, IL-26, IL-27, IL-28, IL-29, IL-30, IL-31, IL-32, IL-33, IL-34, IL-35 e IL-36. Por ejemplo, la interleucina puede ser interleucina 10, interleucina 2 y/o súper interleucina 2.

Según la invención, la cadena pesada y la cadena ligera de la parte (1) del complejo proteínico forman un anticuerpo capaz de unirse a un antígeno asociado a tumor. En algunas realizaciones, es capaz de unirse específicamente a un marcador de superficie de célula cancerosa o un marcador asociado a célula cancerosa. Por ejemplo, la parte (1) del complejo proteínico puede ser un anticuerpo que se une específicamente a un miembro de la familia de EGFR, tal como un anticuerpo que se une específicamente a EGFR (por ejemplo, Cetuximab); o un anticuerpo que se une específicamente a Her-2 (por ejemplo, trastuzumab). En algunas realizaciones la parte (1) del complejo proteínico es un marcador capaz de unirse específicamente a una diana seleccionada del grupo que consiste en EGFR, HER2/neu, HER4, HER3, MUC-1, G250, mesotelina, gp100, CS1, tirosinasa y MAGE. En algunas realizaciones, las cadenas pesada y ligera de la parte (1) del complejo proteínico forman o comprenden un anticuerpo seleccionado del grupo que consiste en panitumumab, nimotuzumab, zalutumumab, necitumumab, ABT-806, Sym004, pertuzumab, margetuximab, patritumab, rituximab, ofatumumab, obinutuzumab, ocrelizumab, ibritumomab, tositumomab, ocaratuzumab, veltuzumab, RTXM-83, alemtuzumab, gemtuzumab, daratumumab, epratuzumab, brentuximab, rilotumumab, ranibizumab, ramucirumab, bevacizumab, catumaxomab, dalotuzumab, ganitumab, girentuximab, girentuximab, WX G250, CC49, T84.66, labetuzumab, anetumab, hu7D9.v3, YYP-218, YP-223, YP-3, SD1, SD2, 111In-SS1-scFvSA, MDX-1382, RG-7787, MDX-1459, TF-10, m170, PankoMab, HmAb16, elotuzumab, y fragmentos de los mismos. En algunas realizaciones, las cadenas pesada y ligera de la parte (1) del complejo proteínico forman un anticuerpo de cadena sencilla, y puede comprender CDR y/o regiones variables de un anticuerpo seleccionado del grupo que consiste en cetuximab, trastuzumab, rituximab, ibritumomab, tositumomab, panitumumab, nimotuzumab, zalutumumab, necitumumab, ABT-806, Sym004, pertuzumab, margetuximab, MAGE-101, patritumab, ofatumumab, obinutuzumab, ocrelizumab, ibritumomab, ocaratuzumab, veltuzumab, RTXM-83, Campath-1H (alemtuzumab), Milotarg™ (gemtuzumab, dirigido a CD33), daratumumab, epratuzumab, brentuximab, rilotumumab, ranibizumab, ramucirumab, bevacizumab (Avastin™), catumaxomab, dalotuzumab, ganitumab, girentuximab (dirigido a G250), WX-G250 (dirigido a G250), CC49 (dirigido a TAG-72), T84.66 (dirigido a CEA), labetuzumab (dirigido a CEA), anetumab (dirigido a mesotelina), hu7D9.v3 (dirigido a mesotelina), YYP-218, YP-223, YP-3, SD1, SD2, 111In-SS1-scFvSA, MDX-1382, RG-7787, MDX-1459, TF-10, m170 (dirigido a MUC1), PankoMab (dirigido a MUC1), HmAb16 (dirigido a MUC1) y elotuzumab (dirigido a CS1).

En algunas realizaciones, la parte (1) del complejo proteínico es o comprende un anticuerpo seleccionado del grupo que consiste en Rituxan, IF5, B1, 1H4, CD19, B4, B43, FVS191, hLL2, LL2, RFB4, M195, HuM195, AT 13/5, HERCEPTIN®, 4D5, HuCC49, y fragmentos de los mismos. En algunas realizaciones, la parte (1) del complejo proteínico es o comprende un anticuerpo capaz de unirse a miembro(s) de la familia de EGFR. En algunas realizaciones, el anticuerpo capaz de unirse a miembro(s) de la familia de EGFR se selecciona del grupo que

consiste en C6.5, C6ML3-9, C6MH3-B1, C6-B1D2, F5, HER3.A5, HER3. F4, HER3. HI, HER3. H3, HER3. E12, HER3. B12, EGFR. E12, EGFR. C10, EGFR. B11, EGFR. E8, HER4. B4, HER4. G4, HER4. F4, HER4. A8, HER4. B6, HER4. D4, HER4. D7, HER4. D1U, HER4. D12, HER4. E3, HER4. E7, HER4. F8 y HER4.C7. En algunas realizaciones, la parte (1) del complejo proteínico es o comprende el anticuerpo cetuximab, trastuzumab, pertuzumab o Mab806. En algunas realizaciones, la parte (1) del complejo proteínico es un anticuerpo que comprende las mutaciones puntuales S354C y/o T366W en posiciones correspondientes a la posición 354 y/o 366 de la cadena pesada de cetuximab, trastuzumab, pertuzumab o Mab806. Las mutaciones puntuales pueden estar comprendidas en la cadena pesada de la parte (1) del complejo proteínico o la región Fc de antígeno del complejo proteínico heterodimérico.

En algunas realizaciones, el anticuerpo capaz de unirse a un antígeno asociado a tumor comprende las 3 secuencias de CDR en la región variable de cadena pesada (VH) y/o las 3 secuencias de CDR en la región variable de cadena ligera (VL) de cetuximab, trastuzumab, Mab806 o pertuzumab. En algunos casos, el anticuerpo puede comprender secuencias de VH y/o VL de cetuximab, trastuzumab, Mab806 o pertuzumab. Por ejemplo, el anticuerpo puede comprender una cadena pesada y una cadena ligera, en el que las secuencias de aminoácidos de su VL pueden ser tal como se expone en SEQ ID NO:29, y/o las secuencias de aminoácidos de su VH pueden ser tal como se expone en SEQ ID NO:30. En otro ejemplo, el anticuerpo puede comprender una cadena pesada y una cadena ligera, en el que las secuencias de aminoácidos de las tres CDR en su VL pueden ser tal como se expone en SEQ ID NO: 31(CDR-L1), SEQ ID NO: 32(CDR-L2) y SEQ ID NO: 33(CDR-L3), respectivamente, y/o las secuencias de aminoácidos de las tres CDR en su VH pueden ser tal como se expone en SEQ ID NO: 34(CDR-H1), SEQ ID NO: 35(CDR-H2) y SEQ ID NO: 36(CDR-H3), respectivamente. En un ejemplo adicional, el anticuerpo puede comprender una cadena pesada y una cadena ligera, en el que las secuencias de aminoácidos de su VL pueden ser tal como se expone en SEQ ID NO: 37, y/o las secuencias de aminoácidos de su VH pueden ser tal como se expone en SEQ ID NO: 38. En otro ejemplo, el anticuerpo puede comprender una cadena pesada y una cadena ligera, en el que las secuencias de aminoácidos de las tres CDR en su VL pueden ser tal como se expone en SEQ ID NO: 39(CDR-L1), SEQ ID NO: 40(CDR-L2) y SEQ ID NO: 41(CDR-L3), respectivamente, y/o las secuencias de aminoácidos de las tres CDR en su VH pueden ser tal como se expone en SEQ ID NO: 42(CDR-H1), SEQ ID NO: 43(CDR-H2) y SEQ ID NO: 44(CDR-H3), respectivamente. En algunas realizaciones, el anticuerpo puede comprender una cadena pesada y una cadena ligera, en el que las secuencias de aminoácidos de su VL pueden ser tal como se expone en SEQ ID NO: 58, y/o las secuencias de aminoácidos de su VH pueden ser tal como se expone en SEQ ID NO: 57. En un ejemplo, el anticuerpo puede comprender una cadena pesada y una cadena ligera, en el que las secuencias de aminoácidos de las tres CDR en su VL pueden ser tal como se expone en SEQ ID NO: 62(CDR-L1), SEQ ID NO: 63(CDR-L2) y SEQ ID NO: 64(CDR-L3), respectivamente, y/o las secuencias de aminoácidos de las tres CDR en su VH pueden ser tal como se expone en SEQ ID NO: 59(CDR-H1), SEQ ID NO: 60(CDRH2) y SEQ ID NO: 61(CDR-H3), respectivamente. En un ejemplo adicional, el anticuerpo puede comprender una cadena pesada y una cadena ligera, en que las secuencias de aminoácidos de su VL pueden ser tal como se expone en SEQ ID NO: 69, y/o las secuencias de aminoácidos de su VH pueden ser tal como se expone en SEQ ID NO: 70. En otro ejemplo, el anticuerpo puede comprender una cadena pesada y una cadena ligera, en el que las secuencias de aminoácidos de las tres CDR en su VL pueden ser tal como se expone en SEQ ID NO: 71(CDR-L1), SEQ ID NO: 72(CDR-L2) y SEQ ID NO: 73(CDR-L3), respectivamente, y/o las secuencias de aminoácidos de las tres CDR en su VH pueden ser tal como se expone en SEQ ID NO: 74(CDR-H1), SEQ ID NO: 75(CDR-H2) y SEQ ID NO: 76(CDR-H3), respectivamente. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende las mutaciones puntuales S354C y/o T366W en posiciones correspondientes a la posición 354 y/o posición 366 de la cadena pesada de cetuximab, trastuzumab, pertuzumab o Mab806.

En algunas realizaciones, el anticuerpo capaz de unirse a un antígeno asociado a tumor es o comprende un anticuerpo seleccionado del grupo que consiste en Fv de cadena sencilla (ScFv), Fab, (Fab')<sub>2</sub>, (ScFv)<sub>2</sub> e inmunoglobulinas de longitud completa.

En algunas realizaciones, el anticuerpo capaz de unirse a un antígeno asociado a tumor comprende: i) una cadena ligera que tiene una secuencia de aminoácidos tal como se expone en SEQ ID NO:11, y/o ii) una cadena pesada que tiene una secuencia de aminoácidos tal como se expone en SEQ ID NO: 13. En otro ejemplo, el anticuerpo capaz de unirse a un antígeno asociado a tumor puede comprender: i) una cadena ligera que tiene una secuencia de aminoácidos tal como se expone en SEQ ID NO: 15, y/o ii) una cadena pesada que tiene una secuencia de aminoácidos tal como se expone en SEQ ID NO: 17. En otro ejemplo, el anticuerpo capaz de unirse a un antígeno asociado a tumor puede comprender: i) una cadena ligera que tiene una secuencia de aminoácidos tal como se expone en SEQ ID NO: 55, y/o ii) una cadena pesada que tiene una secuencia de aminoácidos tal como se expone en SEQ ID NO: 53. En otro ejemplo, el anticuerpo capaz de unirse a un antígeno asociado a tumor puede comprender: i) una cadena ligera que tiene una secuencia de aminoácidos tal como se expone en SEQ ID NO: 65, y/o ii) una cadena pesada que tiene una secuencia de aminoácidos tal como se expone en SEQ ID NO: 67.

En algunas realizaciones, la región Fc de una inmunoglobulina comprendida en el segundo miembro del complejo proteínico heterodimérico se selecciona de una región constante de las siguientes inmunoglobulinas: IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4. En algunas realizaciones, la cadena pesada y la cadena ligera de la parte (1) del complejo proteínico comprendidas en el primer miembro del heterodímero forman o comprenden un anticuerpo, y el anticuerpo puede comprender una región Fc que es de la región constante de una inmunoglobulina del mismo subtipo que la de la

región Fc comprendida en el segundo miembro del complejo heterodimérico. Por ejemplo, la región constante de inmunoglobulina puede comprender una secuencia de aminoácidos tal como se expone en SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 48, u homólogos de la misma que tienen al menos el 50%, al menos el 60%, al menos el 70%, al menos el 80%, al menos el 90%, al menos el 95%, al menos el 98% o al menos el 99% de identidad de secuencia de aminoácidos con la misma. En algunas realizaciones, la identidad de secuencia del homólogo es de al menos el 80% o al menos el 90%.

En algunas realizaciones, la región Fc de inmunoglobulina del segundo miembro del heterodímero comprende una secuencia de aminoácidos idéntica a la de la región constante de inmunoglobulina  $\gamma$  1 (IgG1). En algunas realizaciones, la IgG1 es IgG1 humana. En algunas realizaciones, la región Fc de inmunoglobulina en el segundo miembro del heterodímero comprende una secuencia de aminoácidos que tiene las mutaciones puntuales Y349C, T366S, L368A y/o Y407V en posiciones correspondientes a las posiciones 349, 366, 368 y/o 407 de la región constante de IgG1 humana, cuando se compara con la secuencia de aminoácidos de la región constante de IgG1 humana.

En algunas realizaciones, el segundo miembro del complejo proteínico heterodimérico comprende una secuencia de aminoácidos tal como se expone en SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 51, u homólogos de la misma que tienen al menos el 50%, al menos el 60%, al menos el 70%, al menos el 80%, al menos el 90%, al menos el 95%, al menos el 98% o al menos el 99% de identidad de secuencia de aminoácidos con la misma. En algunas realizaciones, la identidad de secuencia del homólogo es de al menos el 80%, o al menos el 90%. En algunas realizaciones, el resto de direccionamiento es o comprende una molécula capaz de unirse específica o preferentemente con un marcador expresado por una célula diana (por ejemplo, un marcador expresado en la superficie de una célula diana) o un marcador asociado con una célula diana. Aunque la célula diana puede ser prácticamente cualquier tipo de célula, puede referirse en particular a células asociadas con una enfermedad o un trastorno caracterizado por sobreproliferación celular (es decir, trastornos de hiperproliferación). Los ejemplos de enfermedades hiperproliferativas incluyen, pero no se limitan a, psoriasis, leucocitosis neutra, policitemia, trombocitosis y cáncer.

Los ejemplos no limitativos adicionales de trastornos hiperproliferativos (por ejemplo, los caracterizados como cáncer) incluyen tumores sólidos, tales como cánceres de mama, tracto respiratorio, cerebro, órganos reproductivos, tracto digestivo, tracto urinario, ojo, hígado, piel, cabeza y cuello, tiroides, paratiroides y sus metástasis distantes. Los ejemplos adicionales de trastornos hiperproliferativos también incluyen linfomas, sarcomas y leucemias. Los ejemplos no limitativos de cáncer de mama incluyen carcinoma ductal invasivo, carcinoma lobular invasivo, carcinoma ductal *in situ* y carcinoma lobular *in situ*. Los ejemplos de cánceres del tracto respiratorio incluyen, pero no se limitan a, carcinoma de pulmón de células pequeñas y no pequeñas, así como adenoma bronquial y blastoma pleuropulmonar. Los ejemplos de cánceres de cerebro incluyen, pero no se limitan a, glioma de tronco encefálico e hipotalámico, astrocitoma cerebeloso y cerebral, meduloblastoma, ependimoma, así como tumor neuroectodérmico y pineal. Los tumores de los órganos reproductores masculinos incluyen, pero no se limitan a, cáncer de próstata y testicular. Los tumores de los órganos reproductores femeninos incluyen, pero no se limitan a, cáncer endometrial, de cuello uterino, de ovario, vaginal y vulvar, así como sarcoma del útero. Los tumores del tracto digestivo incluyen, pero no se limitan a, cáncer anal, de colon, colorrectal, esofágico, de vesícula biliar, gástrico, pancreático, rectal, de intestino delgado y de glándulas salivales. Los tumores del tracto urinario incluyen, pero no se limitan a, cánceres de vejiga, pene, riñón, pelvis renal, uréter y uretra. Los cánceres oculares incluyen, pero no se limitan a, melanoma intraocular y retinoblastoma. Los ejemplos de cánceres de hígado incluyen, pero no se limitan a, carcinoma hepatocelular (carcinomas de células hepáticas con o sin variante fibrolamelar), colangiocarcinoma (carcinoma de conducto biliar intrahepático) y colangiocarcinoma hepatocelular mixto. Los cánceres de piel incluyen, pero no se limitan a, carcinoma de células escamosas, sarcoma de Kaposi, melanoma maligno, cáncer de piel de células de Merkel y cáncer de piel distinto de melanoma. Los cánceres de cabeza y cuello incluyen, pero no se limitan a, cáncer de laringe/hipofaríngeo/nasofaríngeo/orofaríngeo y cáncer de labios y cavidad oral. Los linfomas incluyen, pero no se limitan a, linfoma relacionado con el SIDA, linfoma no Hodgkin, linfoma cutáneo de células T, enfermedad de Hodgkin y linfoma del sistema nervioso central. Los sarcomas incluyen, pero no se limitan a, sarcoma de tejidos blandos, osteosarcoma, histiocitoma fibroso maligno, linfosarcoma y rhabdomyosarcoma. Las leucemias incluyen, pero no se limitan a, leucemia mieloide aguda, leucemia linfoblástica aguda, leucemia linfocítica crónica, leucemia mielógena crónica y tricoleucemia.

En algunas realizaciones, la parte (1) del complejo proteínico es un resto que se une a un marcador de cáncer (por ejemplo, un antígeno asociado a tumor). Estos marcadores no son necesariamente exclusivos de las células cancerosas, sino que también pueden ser eficaces cuando la expresión del marcador está elevada en una célula cancerosa (en comparación con células sanas normales) o cuando el marcador no está presente a niveles comparables en los tejidos circundantes (especialmente cuando el complejo proteínico de la presente divulgación se administra localmente).

Los ejemplos de marcadores de cáncer incluyen, pero no se limitan a, el marcador tumoral reconocido por el anticuerpo monoclonal ND4. Este marcador se encuentra en cáncer colorrectal poco diferenciado, así como tumores neuroendocrinos gastrointestinales (véase, por ejemplo, Tobi *et al.* (1998) Cancer Detection and Prevention, 22 (2): 147-152). Otros ejemplos de dianas para la inmunoterapia contra el cáncer incluyen glicoproteína reguladora del

complemento unida a la membrana, tal como CD46, CD55 y CD59, que se ha encontrado que se expresa en la mayoría de las células tumorales *in vivo* e *in vitro*. Las mucinas humanas (por ejemplo, MUC1) también son ejemplos de marcadores tumorales, como lo son gp100, tirosinasa y MAGE, que se encuentran en melanoma. El gen de tumor de Wilms silvestre WT1 se expresa a niveles altos no solo en la mayoría de las leucemias mielocíticas agudas, linfocíticas agudas y mielocíticas crónicas, sino también en diversos tipos de tumores sólidos, incluyendo cáncer de pulmón.

La leucemia linfocítica aguda se ha caracterizado por los antígenos asociados a tumor (TAA) HLA-Dr, CD1, CD2, CD5, CD7, CD19 y CD20. La leucemia mielógena aguda se ha caracterizado por los TAA HLA-Dr, CD7, CD13, CD14, CD15, CD33 y CD34. El cáncer de mama se ha caracterizado por los marcadores EGFR, HER2, MUC1, Tag-72. Diversos carcinomas se han caracterizado por los marcadores MUC1, TAG-72 y CEA. La leucemia linfocítica crónica se ha caracterizado por los marcadores CD3, CD19, CD20, CD21, CD25 y HLA-DR. La leucemia de células pilosas se ha caracterizado por los marcadores CD19, CD20, CD21, CD25. La enfermedad de Hodgkin se ha caracterizado por el marcador Leu-M1. Diversos melanomas se han caracterizado por el marcador HMB 45. Los linfomas no Hodgkin se han caracterizado por el marcador CD20, CD19 e Ia. Y diversos cánceres de próstata se han caracterizado por los marcadores PSMA y SE10.

En algunas realizaciones, las células tumorales pueden presentar antígenos poco comunes que son inapropiados para el tipo de célula y/o su entorno, o solo están normalmente presentes durante el desarrollo de los organismos (por ejemplo, antígenos fetales). Los ejemplos de tales antígenos incluyen el glicoesfingolípido GD2, un disialogangliósido que normalmente solo se expresa a un nivel significativo en las membranas de la superficie externa de células neuronales, donde su exposición al sistema inmunitario está limitada por la barrera hematoencefálica. GD2 se expresa en las superficies de una amplia gama de células tumorales, incluyendo neuroblastoma, meduloblastomas, astrocitomas, melanomas, cáncer de pulmón de células pequeñas, osteosarcomas y otros sarcomas de tejidos blandos. GD2 es, por tanto, una diana específica de tumor conveniente para inmunoterapias.

Otros tipos de células tumorales pueden presentar receptores de superficie celular que son poco comunes o están ausentes en las superficies de las células sanas, y que son responsables de activar las vías de señalización celular que provocan el crecimiento y la división no regulados de la célula tumoral. Los ejemplos incluyen (ErbB2) HER2/neu, un receptor de superficie celular constitutivamente activo que se produce a niveles anómalamente altos en la superficie de células tumorales de cáncer de mama. Otros ejemplos útiles de dianas incluyen, pero no se limitan a CD20, CD52, CD33, receptor de factor de crecimiento epidérmico y similares.

Cualquiera de los marcadores comentados anteriormente puede seleccionarse como diana por el resto de direccionamiento comprendido en el heterodímero de la presente divulgación. En algunas realizaciones, el marcador seleccionado como diana es uno o más de un miembro de la familia de EGFR (por ejemplo, HER2, HER3, EGFR, HER4), CD1, CD2, CD3, CD5, CD7, CD13, CD14, CD15, CD19, CD20, CD21, CD23, CD25, CD33, CD34, CD38, 5E10, CEA, HLA-DR, HM 1. 24, HMB 45, Ia, Leu-M1, MUC1, PMSA, TAG-72, fosfatidilserina, CS1, etc.

En un aspecto, la presente divulgación proporciona un polinucleótido aislado que codifica para un complejo proteínico de la presente divulgación, un miembro del mismo o fragmentos del mismo. En algunas realizaciones, la presente divulgación proporciona un polinucleótido aislado que codifica para una proteína de heterodímero de la presente divulgación, un miembro de la misma o fragmentos de la misma. El polinucleótido puede sintetizarse usando técnicas recombinantes bien conocidas en la técnica. Por ejemplo, el polinucleótido puede sintetizarse mediante el uso de un sintetizador de ADN automatizado.

Las técnicas de ADN recombinante y de clonación molecular convencionales incluyen las descritas por Sambrook, J., Fritsch, E. F. y Maniatis, T. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*; Cold Spring Harbor Laboratory Press: Cold Spring Harbor, (1989) (Maniatis) y por T. J. Silhavy, M. L. Bannan y L. W. Enquist, *Experiments with Gene Fusions*, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, N.Y. (1984) y por Ausubel, F. M. et al., *Current Protocols in Molecular Biology*, pub. por Greene Publishing Assoc. y Wiley-Interscience (1987). Brevemente, los ácidos nucleicos objeto pueden prepararse a partir de fragmentos de ADN genómico, ADNc y ARN, todos los cuales pueden extraerse directamente de una célula o producirse de forma recombinante mediante diversos procesos de amplificación incluyendo, pero no sin limitarse a, PCR y RT-PCR.

La síntesis química directa de ácidos nucleicos implica normalmente la adición secuencial de monómeros de nucleótidos bloqueados en 3' y bloqueados en 5' al grupo hidroxilo 5'-terminal de una cadena de polímero de nucleótidos en crecimiento, en donde cada adición se efectúa por ataque nucleofílico del grupo hidroxilo 5'-terminal de la cadena en crecimiento en la posición 3' del monómero añadido, que es normalmente un derivado de fósforo, tal como un fosfotriéster, fosforamida o similares. Véase, por ejemplo, Matteuci *et al.*, *Tet. Lett.* 521: 719 (1980); la patente estadounidense n.º 4.500.707 concedida a Caruthers *et al.*; y las patentes estadounidenses n.ºs 5.436.327 y 5.700.637 concedidas a Southern *et al.* En un aspecto adicional, la presente divulgación proporciona un vector que comprende un polinucleótido aislado de la presente divulgación. El vector puede ser cualquier ácido nucleico lineal, plásmido, fagémido, cósmido, vector de ARN, vector virales y similares. Los ejemplos no limitativos de un vector viral pueden incluir un retrovirus, un adenovirus y un virus adenoasociado. En algunas realizaciones, el vector es un

vector de expresión, por ejemplo, un vector de presentación en fago.

Un vector de expresión puede ser adecuado para su uso en tipos particulares de células huésped y no en otras. Por ejemplo, el vector de expresión puede introducirse en el organismo huésped, que luego se monitoriza para determinar la viabilidad y expresión de cualquier gen/polinucleótido contenido en el vector.

El vector de expresión también puede contener uno o más genes marcadores seleccionables que, tras la expresión, confieren uno o más rasgos fenotípicos útiles para seleccionar o identificar células huésped que portan el vector de expresión. Los ejemplos no limitativos de marcadores seleccionables adecuados para células eucariotas incluyen resistencia a neomicina y dihidrofolato reductasa.

Los vectores objeto pueden introducirse en una célula huésped de manera estable o transitoria mediante una variedad de técnicas establecidas. Por ejemplo, un método implica un tratamiento con cloruro de calcio en el que el vector de expresión se introduce a través de un precipitado de calcio. También pueden usarse otras sales, por ejemplo, fosfato de calcio, siguiendo un procedimiento similar. Además, puede utilizarse electroporación (es decir, la aplicación de corriente para aumentar la permeabilidad de las células a los ácidos nucleicos). Otros ejemplos de métodos de transformación incluyen microinyección, transformación mediada por DEAE dextrano y choque térmico en presencia de acetato de litio. También pueden emplearse complejos lipídicos, liposomas y dendrímeros para transfectar las células huésped.

Tras la introducción de la secuencia heteróloga en una célula huésped, pueden ponerse en práctica una variedad de métodos para identificar las células huésped en las que se han introducido los vectores objeto. Un método de selección a modo de ejemplo implica subcultivar células individuales para formar colonias individuales, seguido por pruebas para la expresión del producto proteico deseado. Otro método implica seleccionar células huésped que contienen la secuencia heteróloga basándose en rasgos fenotípicos conferidos a través de la expresión de genes marcadores seleccionables contenidos dentro del vector de expresión.

Por ejemplo, la introducción de diversas secuencias heterólogas de la divulgación en una célula huésped puede confirmarse mediante métodos tales como PCR, hibridación de tipo Southern o hibridación puntual de tipo Northern. Por ejemplo, pueden prepararse ácidos nucleicos a partir de las células huésped resultantes, y las secuencias específicas de interés pueden amplificarse mediante PCR usando cebadores específicos para las secuencias de interés. El producto amplificado se somete a electroforesis en gel de agarosa, electroforesis en gel de poliacrilamida o electroforesis capilar, seguido por tinción con bromuro de etidio, disolución SYBR Green o similares, o detección de ADN con una detección UV. Alternativamente, pueden emplearse sondas de ácido nucleico específicas para las secuencias de interés en una reacción de hibridación. La expresión de una secuencia génica específica puede determinarse detectando el ARNm correspondiente mediante transcripción inversa acoplada con PCR, hibridación puntual de tipo Northern o mediante inmunoensayos usando anticuerpos reactivos con el producto génico codificado. Los inmunoensayos a modo de ejemplo incluyen, pero no se limitan a ELISA, radioinmunoensayos e inmunoensayos de tipo sándwich.

Además, la introducción de diversas secuencias heterólogas de la divulgación en una célula huésped puede confirmarse por la actividad enzimática de una enzima (por ejemplo, un marcador enzimático) que codifica la secuencia heteróloga. La enzima puede analizarse mediante una variedad de métodos conocidos en la técnica. En general, la actividad enzimática puede determinarse mediante la formación del producto o la conversión de un sustrato de una reacción enzimática que está en investigación. La reacción puede tener lugar *in vitro* o *in vivo*.

En otro aspecto, la presente divulgación proporciona una célula (por ejemplo, una célula huésped) que comprende un polinucleótido o un vector descrito en otra parte en el presente documento, y/o capaz de expresar el complejo proteínico de la presente divulgación y/o el polinucleótido aislado que codifica para el complejo proteínico. En algunas realizaciones, la célula expresa el complejo proteico heterodimérico de la presente divulgación y/o el polinucleótido aislado que codifica para el complejo proteico heterodimérico. La célula puede ser una célula eucariota o una célula procariota. Una célula apropiada puede transformarse o transfectarse con el polinucleótido o vector de la presente divulgación, y utilizarse para la expresión y/o secreción de la proteína de heterodímero. Por ejemplo, la célula puede ser células de *E. coli*, otras células huésped bacterianas, células de levadura o diversas células eucariotas superiores (por ejemplo, células de hibridoma inmortales, células de mieloma NSO, células 293, células de ovario de hámster chino, células HeLa, células COS, etc.). En algunas realizaciones, los polinucleótidos que codifican para el complejo proteínico (por ejemplo, una proteína de heterodímero) están operativamente conectados a una secuencia de control de la expresión adecuada para la expresión en células huésped específicas.

#### Método para preparar complejos proteínicos

En un aspecto, la presente divulgación proporciona métodos para producir complejos proteínicos de heterodímero. En algunas realizaciones, el método comprende las siguientes etapas:

(1) proporcionar un miembro del heterodímero, en el que el miembro comprende (i) una cadena ligera y (ii) una cadena pesada que presentan especificidad de unión a un antígeno tumoral;

(2) proporcionar otro miembro de dicho heterodímero, en el que el otro miembro comprende un polipéptido que comprende, desde el extremo N-terminal hasta el extremo C-terminal, un inmunorregulador fusionado a una región Fc de antígeno, en el que la región Fc de antígeno se compleja con la cadena pesada (ii) para formar el heterodímero; y

3) obtener el complejo proteínico de heterodímero.

En algunas realizaciones, el método para producir complejos proteínicos comprende las etapas de: cultivar una célula huésped de la presente divulgación en condiciones para efectuar la expresión del heterodímero, y recoger el heterodímero expresado.

En algunas realizaciones, la presente divulgación proporciona un método para producir complejos proteínicos heterodiméricos de la presente divulgación. En algunas realizaciones, el método comprende las siguientes etapas:

(1) proporcionar una primera parte, en el que la primera parte comprende una cadena pesada y una cadena ligera capaces de unirse a un antígeno asociado a tumor, un marcador de superficie de célula cancerosa o un marcador asociado a célula cancerosa;

(2) proporcionar un segundo miembro (por ejemplo, un segundo polipéptido), en el que el segundo miembro comprende una región Fc de una inmunoglobulina y un interferón, una interleucina o cualquier otro inmunorregulador; y

(3) obtener el heterodímero de proteína.

En algunas realizaciones, el método para producir complejos proteínicos heterodiméricos de la presente divulgación comprende las etapas de: cultivar una célula huésped de la presente divulgación en condiciones para efectuar la expresión de la proteína de heterodímero, y recoger la proteína de heterodímero expresada.

En algunas realizaciones, el método comprende además las etapas de aislar y/o purificar el complejo proteínico o proteínas de heterodímero.

En algunas realizaciones, el método comprende además las etapas de transfectar/transformar células huésped con polinucleótidos/vectores que codifican/expresan el heterodímero de la presente divulgación, uno o más miembros del mismo o fragmentos del mismo.

En algunas realizaciones, el complejo proteínico o proteína de heterodímero de la presente divulgación se produce expresando un vector en una célula en condiciones adecuadas para la expresión de proteínas.

Los factores que pueden variar entre las condiciones adecuada para la expresión de proteínas incluyen factores tales como tiempo de incubación, temperatura y medio, y pueden depender del tipo de célula y los determinará fácilmente un experto habitual en la técnica.

En algunas realizaciones, durante el proceso de producción del complejo proteínico o proteína de heterodímero de la presente divulgación, las células huésped se hacen crecer en cultivos, y en cualquier aparato que pueda usarse para hacer crecer cultivos, incluyendo fermentadores. Las células pueden hacerse crecer como monocapas o unidas a una superficie. Alternativamente, las células huésped pueden hacerse crecer en suspensión. Las células pueden hacerse crecer en un medio de cultivo que está libre de suero. El medio puede ser un medio comercialmente disponible, tal como, pero sin limitarse a, Opti-CHO (Invitrogen, n.º de catálogo 12681) complementado con glutamina, tal como L-glutamina 8 mM; medio RPMI 1640, complementado con suero de ternero bovino al 10%, mL-3 10,5 ng/ml y L-glutamina; o medio FCS al 5%.

#### Composiciones farmacéuticas

En un aspecto, la presente divulgación proporciona composiciones farmacéuticas. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende un complejo proteínico aislado (por ejemplo, una proteína de heterodímero aislada) o un polinucleótido aislado de la presente divulgación. La composición farmacéutica puede comprender además un excipiente farmacéuticamente aceptable. Los ejemplos de excipientes farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no se limitan a, diluyentes sólidos inertes y cargas, diluyentes, disolución acuosa estéril y diversos disolventes orgánicos, potenciadores de la permeación, solubilizantes y adyuvantes.

En algunas realizaciones, la composición farmacéutica se formula para administración oral, administración intravenosa, administración intramuscular, administración *in situ* en el sitio de un tumor, inhalación, administración rectal, administración vaginal, administración transdérmica o administración mediante depósito subcutáneo.

La composición farmacéutica puede usarse para inhibir el crecimiento tumoral. Por ejemplo, las composiciones

farmacéuticas, medicamentos y/o kits pueden inhibir o retrasar el desarrollo o progreso de una enfermedad, pueden reducir el tamaño tumoral (e incluso eliminar sustancialmente tumores) y pueden aliviar y/o estabilizar un estado patológico.

5 A continuación, se describen composiciones farmacéuticas a modo de ejemplo no limitativas y métodos para prepararlas.

La composición farmacéutica objeto puede estar, por ejemplo, en una forma adecuada para administración oral como un comprimido, cápsula, píldora, polvo, formulaciones de liberación sostenida, disolución, suspensión, para inyección parenteral como una disolución, suspensión o emulsión estéril, para administración tópica como una pomada o crema o para administración rectal como un supositorio. La composición farmacéutica puede estar en formas de dosificación unitarias adecuadas para la administración individual de dosificaciones precisas. La composición farmacéutica puede comprender además un complejo proteínico (por ejemplo, una proteína de heterodímero) según la presente divulgación como principio activo y puede incluir un portador o excipiente farmacéutico convencional. Además, puede incluir otros agentes, portadores, adyuvantes medicinales o farmacéuticos, etc.

Las formas de administración parenteral a modo de ejemplo incluyen, pero no se limitan a, disoluciones o suspensiones de un heterodímero proteínico activo (por ejemplo, una proteína de heterodímero) en disoluciones acuosas estériles, por ejemplo, disoluciones acuosas de propilenglicol o dextrosa. Tales formas de dosificación pueden tamponarse adecuadamente con sales tales como histidina y/o fosfato, si se desea.

En algunas realizaciones, la presente divulgación proporciona una composición farmacéutica para inyección que contiene un complejo proteínico (por ejemplo, una proteína de heterodímero) de la presente divulgación y un excipiente farmacéutico adecuado para inyección. Los componentes y las cantidades de agentes en las composiciones son tal como se describen en el presente documento.

Las formas en las que las composiciones farmacéuticas de la presente divulgación pueden incorporarse para administración por inyección incluyen suspensiones acuosas u oleosas, o emulsiones, con aceite de sésamo, aceite de maíz, aceite de semilla de algodón o aceite de maní, así como elixires, manitol, dextrosa o una disolución acuosa estéril, y vehículos farmacéuticos similares.

También pueden usarse disoluciones acuosas en solución salina para inyección. También pueden emplearse etanol, glicerol, propilenglicol, polietilenglicol líquido y similares (y mezclas adecuadas de los mismos), derivados de ciclodextrina y aceites vegetales. La fluidez apropiada puede mantenerse, por ejemplo, mediante el uso de un recubrimiento, tal como lecitina, para el mantenimiento del tamaño de partícula requerido en el caso de dispersión y mediante el uso de tensioactivos. La prevención de la acción de los microorganismos puede ocasionarse por diversos agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabenos, clorobutanol, fenol, ácido sórbico, timerosal, y similares.

Pueden prepararse disoluciones inyectables estériles incorporando el complejo proteico (por ejemplo, proteína de heterodímero) de la presente divulgación en una cantidad adecuada en el disolvente apropiado con otros diversos componentes enumerados anteriormente, según sea necesario, seguido por esterilización por filtración. Generalmente, se preparan dispersiones incorporando los diversos principios activos esterilizados en un vehículo estéril que contiene el medio de dispersión básico y otros componentes de los enumerados anteriormente, según sea necesario o se desee. En el caso de polvos estériles para la preparación de disoluciones inyectables estériles, ciertos métodos deseables de preparación son técnicas de secado al vacío y secado por congelación que producen un polvo del principio activo más cualquier componente adicional deseado de una disolución previamente esterilizada por filtración del mismo.

En algunas realizaciones, la presente divulgación proporciona una composición farmacéutica para administración oral que contiene un complejo proteínico (por ejemplo, una proteína de heterodímero) de la divulgación, y un excipiente farmacéutico adecuado para administración oral.

En algunas realizaciones, la presente divulgación proporciona una composición farmacéutica sólida para administración oral que contiene: (i) una cantidad de un complejo proteínico (por ejemplo, una proteína de heterodímero) de la divulgación; opcionalmente (ii) una cantidad de un segundo agente; y (iii) un excipiente farmacéutico adecuado para administración oral. En algunas realizaciones, la composición contiene, además: (iv) una cantidad de un tercer agente. En algunas realizaciones, las cantidades del heterodímero proteínico, el segundo agente y el tercer agente opcional son cantidades que, solas o en combinación, son eficaces para tratar un estado de un sujeto.

En algunas realizaciones, la composición farmacéutica puede ser una composición farmacéutica líquida adecuada para el consumo oral. Las composiciones farmacéuticas de la divulgación adecuadas para administración oral pueden presentarse como formas de dosificación diferenciadas, tales como cápsulas, sellos o comprimidos, o líquidos o pulverizaciones de aerosol que contienen cada uno una cantidad predeterminada de un principio activo

como un polvo o en gránulos, una disolución o una suspensión en un líquido acuoso o no acuoso, una emulsión de aceite en agua o una emulsión líquida de agua en aceite. Tales formas de dosificación pueden prepararse por cualquiera de los métodos de farmacia, pero todos los métodos incluyen normalmente la etapa de asociar el principio activo con el vehículo, que constituye uno o más de otros componentes. En general, las composiciones se preparan mezclando uniforme e íntimamente el principio activo con portadores líquidos o portadores sólidos finamente divididos o ambos, y luego, si es necesario, conformando el producto para dar la presentación deseada.

La presente divulgación abarca además composiciones farmacéuticas anhidras y formas de dosificación que comprenden un principio activo (por ejemplo, un complejo proteínico o una proteína de heterodímero de la presente divulgación), ya que el agua puede facilitar la degradación de algunos polipéptidos. Por ejemplo, puede añadirse agua (por ejemplo, el 5%) en las técnicas farmacéuticas como medio de simulación del almacenamiento a largo plazo para determinar características tales como semivida o la estabilidad de las formulaciones a lo largo del tiempo. Pueden prepararse composiciones farmacéuticas anhidras y formas de dosificación de la divulgación usando componentes anhidros o que contienen poca humedad y condiciones de baja humedad o baja humectación. Las composiciones farmacéuticas y formas de dosificación que contienen lactosa pueden hacerse anhidras si se espera un contacto sustancial con la humedad y/o humectación durante la fabricación, el envasado y/o el almacenamiento. Puede prepararse y almacenarse una composición farmacéutica anhidra de modo que se mantenga su naturaleza anhidra. Por consiguiente, las composiciones anhidras pueden envasarse usando materiales que se sabe que evitan la exposición al agua, de modo que puedan incluirse en kits de formulario adecuados. Los ejemplos de envases adecuados incluyen, pero no se limitan a, láminas selladas herméticamente, plástico o similares, recipientes de dosis unitarias, envases de blíster y envases de tiras.

Un complejo proteínico (por ejemplo, una proteína de heterodímero) de la presente divulgación puede combinarse en una mezcla íntima con un vehículo farmacéutico según técnicas convencionales de composición farmacéutica. El portador puede adoptar una amplia variedad de formas dependiendo de la forma de preparación deseada para la administración. En la preparación de las composiciones para una forma de dosificación oral, puede emplearse cualquiera de los medios farmacéuticos habituales como portadores, tales como, por ejemplo, agua, glicoles, aceites, alcoholes, agentes aromatizantes, conservantes, agentes colorantes y similares en el caso de preparaciones líquidas orales (tales como suspensiones, disoluciones y elixires) o aerosoles; o pueden usarse portadores tales como almidones, azúcares, celulosa microcristalina, diluyentes, agentes de granulación, lubricantes, aglutinantes y agentes disgregantes en el caso de preparaciones sólidas orales, en algunas realizaciones sin emplear el uso de lactosa. Por ejemplo, los portadores adecuados incluyen polvos, cápsulas y comprimidos, con las preparaciones orales sólidas. Si se desea, los comprimidos pueden recubrirse mediante técnicas acuosas o no acuosas convencionales.

Los aglutinantes adecuados para su uso en composiciones farmacéuticas y formas de dosificación incluyen, pero no se limitan a, almidón de maíz, almidón de patata u otros almidones, gelatina, gomas naturales y sintéticas tales como goma arábiga, alginato de sodio, ácido alginico, otros alginatos, tragacanto en polvo, goma guar, celulosa y sus derivados (por ejemplo, etilcelulosa, acetato de celulosa, carboximetilcelulosa de calcio, carboximetilcelulosa de sodio), polivinilpirrolidona, metilcelulosa, almidón pregelatinizado, hidroxipropilmetilcelulosa, celulosa microcristalina, y mezclas de los mismos.

Los ejemplos de cargas adecuadas para su uso en las composiciones farmacéuticas y formas de dosificación dadas a conocer en el presente documento incluyen, pero no se limitan a, talco, carbonato de calcio (por ejemplo, gránulos o polvo), celulosa microcristalina, celulosa en polvo, dextratos, caolín, manitol, ácido silícico, sorbitol, almidón, almidón pregelatinizado, y mezclas de los mismos.

Pueden usarse disgregantes en las composiciones de la divulgación para proporcionar comprimidos que se disgregan cuando se exponen a un entorno acuoso. Demasiado disgregante puede producir comprimidos que pueden disgregarse en la botella. Demasiado poco puede ser insuficiente para que se produzca la disgregación y, por tanto, puede alterar la velocidad y el grado de liberación del/de los principio(s) activo(s) de la forma de dosificación. Por tanto, puede usarse una cantidad suficiente de disgregante que no sea ni demasiado pequeña ni demasiado grande para alterar perjudicialmente la liberación del/de los principio(s) activo(s) para formar las formas de dosificación de los compuestos descritos en el presente documento. La cantidad de disgregante usada puede variar según el tipo de formulación y el modo de administración, y pueden determinarla fácilmente los expertos en la técnica. Puede usar de aproximadamente el 0,5 a aproximadamente el 15 por ciento en peso de disgregante, o de aproximadamente el 1 a aproximadamente el 5 por ciento en peso de disgregante, en la composición farmacéutica. Los disgregantes que pueden usarse para formar composiciones farmacéuticas y formas de dosificación de la divulgación incluyen, pero no se limitan a, agar-agar, ácido alginico, carbonato de calcio, celulosa microcristalina, croscarmelosa de sodio, crospovidona, poliacrilina de potasio, glicolato sódico de almidón, almidón de patata o tapioca, otros almidones, almidón pregelatinizado, otros almidones, arcillas, otras alginas, otras celulosas, gomas o mezclas de los mismos.

Los lubricantes que pueden usarse para formar composiciones farmacéuticas y formas de dosificación de la divulgación incluyen, pero no se limitan a, estearato de calcio, estearato de magnesio, aceite mineral, aceite mineral ligero, glicerina, sorbitol, manitol, polietilenglicol, otros glicoles, ácido esteárico, lauril sulfato de sodio, talco, aceite

- 5 vegetal hidrogenado (por ejemplo, aceite de maní, aceite de semilla de algodón, aceite de girasol, aceite de sésamo, aceite de oliva, aceite de maíz y aceite de soja), estearato de zinc, oleato de etilo, laureato de etilo, agar, y mezclas de los mismos. Los lubricantes adicionales incluyen, por ejemplo, un gel de sílice siloide, un aerosol coagulado de sílice sintética, y mezclas de los mismos. Puede añadirse opcionalmente un lubricante, en una cantidad de menos de aproximadamente el 1 por ciento en peso de la composición farmacéutica.
- 10 Cuando se desean suspensiones acuosas y/o elixires para la administración oral, el principio activo en la misma puede combinarse con diversos agentes edulcorantes o aromatizantes, materia colorante o colorantes y, si así se desea, agentes emulsionantes y/o de suspensión, junto con diluyentes tales como agua, etanol, propilenglicol, glicerina y diversas combinaciones de los mismos.
- 15 Los comprimidos pueden estar no recubiertos o recubiertos mediante técnicas conocidas para retrasar la disgregación y absorción en el tracto gastrointestinal y, de ese modo, proporcionar una acción sostenida a lo largo de un período más largo. Por ejemplo, puede emplearse un material de retardo temporal tal como monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo. Las formulaciones para uso oral también pueden presentarse como cápsulas de gelatina dura en las que el principio activo se mezcla con un diluyente sólido inerte, por ejemplo, carbonato de calcio, fosfato de calcio o caolín, o como cápsulas de gelatina blanda en las que el principio activo se mezcla con agua o un medio oleoso, por ejemplo, aceite de maní, parafina líquida o aceite de oliva.
- 20 El tensioactivo que puede usarse para formar composiciones farmacéuticas y formas de dosificación de la divulgación incluye, pero no se limitan a, tensioactivos hidrófilos, tensioactivos lipófilos y mezclas de los mismos. Puede emplearse una mezcla de tensioactivos hidrófilos, puede emplearse una mezcla de tensioactivos lipófilos o puede emplearse una mezcla de al menos un tensioactivo hidrófilo y al menos un tensioactivo lipófilo.
- 25 Los tensioactivos con valores más bajos de equilibrio hidrófilo-lipófilo (HLB) son más lipófilos o hidrófobos y tienen una mayor solubilidad en aceites, mientras que los tensioactivos con valores más altos de HLB son más hidrófilos y tienen una mayor solubilidad en disoluciones acuosas. Los tensioactivos hidrófilos se considera generalmente que son los compuestos que tienen un valor de HLB mayor de aproximadamente 10, así como compuestos aniónicos, catiónicos o zwitteriónicos para los que la escala de HLB no es generalmente aplicable. De manera similar, los
- 30 tensioactivos lipofílicos (es decir, hidrófobos) son compuestos que tienen un valor de HLB igual a o menor de aproximadamente 10. Sin embargo, el valor de HLB de un tensioactivo es simplemente una guía aproximada generalmente usada para permitir la formulación de emulsiones industriales, farmacéuticas y cosméticas.
- 35 Los tensioactivos hidrofílicos pueden ser o bien iónicos o bien no iónicos. Los tensioactivos iónicos adecuados incluyen, pero no se limitan a, sales de alquilamonio; sales de ácido fusídico; derivados de ácidos grasos de aminoácidos, oligopéptidos y polipéptidos; derivados de glicéridos de aminoácidos, oligopéptidos y polipéptidos; lecitinas y lecitinas hidrogenadas; lisolecitinas y lisolecitinas hidrogenadas; fosfolípidos y derivados de los mismos; lisofosfolípidos y derivados de los mismos; sales de éster de ácido graso de carnitina; sales de alquilsulfatos; sales de ácidos grasos; docusato de sodio; lactilatos de acilo; ésteres de ácido tartárico mono y di-acetilado de mono y
- 40 diglicéridos; mono y diglicéridos succinilados; ésteres de ácido cítrico de mono y diglicéridos; y mezclas de los mismos.
- 45 Dentro del grupo mencionado anteriormente, los tensioactivos iónicos incluyen, a modo de ejemplo: lecitinas, lisolecitina, fosfolípidos, lisofosfolípidos y derivados de los mismos; sales de éster de ácido graso de carnitina; sales de alquilsulfatos; sales de ácidos grasos; docusato de sodio; acilactilatos; ésteres de ácido tartárico mono y di-acetilado de mono y diglicéridos; mono y diglicéridos succinilados; ésteres de ácido cítrico de mono y diglicéridos; y mezclas de los mismos.
- 50 Los tensioactivos iónicos pueden ser las formas ionizadas de lecitina, lisolecitina, fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina, fosfatidilglicerol, ácido fosfatídico, fosfatidilserina, lisofosfatidilcolina, lisofosfatidiletanolamina, lisofosfatidilglicerol, ácido lisofosfatídico, lisofosfatidilserina, PEG-fosfatidiletanolamina, PVP-fosfatidiletanolamina, ésteres lactílicos de ácidos grasos, estearoil-2-lactilato, estearoil-lactilato, monoglicéridos succinilados, ésteres de ácido tartárico mono/diacetilado de mono/diglicéridos, ésteres de ácido cítrico de mono/diglicéridos, colilsarcosina, caproato, caprilato, caprato, laurato, miristato, palmitato, oleato, ricinoleato, linoleato, linolenato, estearato, lauril sulfato, teracecil sulfato, docusato, lauroil carnitinas, palmitoil carnitinas, miristoil carnitinas, y sales y mezclas de los
- 55 mismos.
- 60 Los ejemplos de tensioactivos no iónicos hidrófilos incluyen, pero no se limitan a, alquilglucósidos; alquilmaltósidos; alquiltioglucoídos; macroglicéridos de laurilo; alquiléteres de polioxialquilen tales como alquiléteres de polietilenglicol; alquilfenoles de polioxialquilen tales como alquilfenoles de polietilenglicol; ésteres de ácidos grasos de polioxialquilen alquifenol tales como monoésteres de ácidos grasos de polietilenglicol y diésteres de ácidos grasos de polietilenglicol; ésteres de ácidos grasos de polietilenglicol y glicerol; ésteres de ácidos grasos de poliglicerol; ésteres de ácido graso de polioxialquilen sorbitano tales como ésteres de ácido graso de polietilenglicol sorbitano; productos de transesterificación hidrófila de un polioli con al menos un miembro del grupo que consiste en
- 65 glicéridos, aceites vegetales, aceites vegetales hidrogenados, ácidos grasos y esteroides; polioxietilen esteroides, derivados y análogos de los mismos; vitaminas polioxietiladas y derivados de las mismas; copolímeros de bloque de

polioxi-etileno-polioxi-propileno; y mezclas de los mismos; ésteres de ácidos grasos de polietilenglicol sorbitano y productos de transesterificación hidrófilos de un poliol con al menos un miembro del grupo que consiste en triglicéridos, aceites vegetales y aceites vegetales hidrogenados. El poliol puede ser glicerol, etilenglicol, polietilenglicol, sorbitol, propilenglicol, pentaeritritol o un sacárido.

Otros ejemplos de tensioactivos hidrófilos no iónicos incluyen, sin limitación, laurato de PEG-10, laurato de PEG-12, laurato de PEG-20, laurato de PEG-32, dilaurato de PEG-32, oleato de PEG-12, oleato de PEG-15, oleato de PEG-20, dioleato de PEG-20, oleato de PEG-32, oleato de PEG-200, oleato de PEG-400, estearato de PEG-15, diestearato de PEG-32, estearato de PEG-40, estearato de PEG-100, dilaurato de PEG-20, trioleato de glicerilo de PEG-25, dioleato de PEG-32, laurato de glicerilo de PEG-20, laurato de glicerilo de PEG-30, estearato de glicerilo de PEG-20, oleato de glicerilo de PEG-20, oleato de glicerilo de PEG-30, laurato de glicerilo de PEG-30, laurato de glicerilo de PEG-40, aceite de palmiste de PEG-40, aceite de ricino hidrogenado de PEG-50, aceite de ricino de PEG-40, aceite de ricino de PEG-35, aceite de ricino de PEG-60, aceite de ricino hidrogenado de PEG-40, aceite de ricino hidrogenado de PEG-60, aceite de maíz de PEG-60, glicéridos de caprato/caprilato de PEG-6, glicéridos de caprato/caprilato de PEG-8, laurato de poligliceril-10, colesterol de PEG-30, fitoesterol de PEG-25, esteroles de soja de PEG-30, trioleato de PEG-20, oleato de sorbitano de PEG-40, laurato de sorbitano de PEG-80, polisorbato 20, polisorbato 80, lauril éter de POE-9, lauril éter de POE-23, oleil éter de POE-10, oleil éter de POE-20, estearil éter de POE-20, succinato de tocoferilo de PEG-100, colesterol de PEG-24, oleato de poliglicerilo-10, Tween 40, Tween 60, monoestearato de sacarosa, monolaurato de sacarosa, monopalmitato de sacarosa, serie de nonilfenol de PEG 10-100, serie de octilfenol de PEG 15-100 y poloxámeros.

Los tensioactivos lipófilos adecuados incluyen, a modo de ejemplo solamente: alcoholes grasos; ésteres de ácidos grasos de glicerol; ésteres de ácidos grasos de glicerol acetilado; ésteres de ácidos grasos con bajo contenido de alcohol; ésteres de ácidos grasos de propilenglicol; ésteres de ácidos grasos de sorbitano; ésteres de ácidos grasos de polietilenglicol sorbitano; esteroides y derivados de esteroides; esteroides polioxi-etilados y derivados de esteroides; alquil éteres de polietilenglicol; ésteres de azúcar; éteres de azúcar; derivados de ácido láctico de mono y diglicéridos; productos de transesterificación hidrófobos de un poliol con al menos un miembro del grupo que consiste en glicéridos, aceites vegetales, aceites vegetales hidrogenados, ácidos grasos y esteroides; vitaminas solubles en aceite/derivados de vitaminas; y mezclas de los mismos. Dentro de este grupo, los tensioactivos lipófilos preferidos incluyen ésteres de ácidos grasos de glicerol, ésteres de ácidos grasos de propilenglicol, y mezclas de los mismos, o son productos de transesterificación hidrófobos de un poliol con al menos un miembro del grupo que consiste en aceites vegetales, aceites vegetales hidrogenados y triglicéridos.

En algunas realizaciones, la composición incluye un solubilizante para garantizar una buena solubilización y/o disolución del heterodímero proteínico de la presente divulgación y para minimizar la precipitación del heterodímero proteínico de la presente divulgación. Esto puede ser especialmente importante para composiciones para uso no oral, por ejemplo, composiciones para inyección. También puede añadirse un solubilizante para aumentar la solubilidad del fármaco hidrófilo y/u otros componentes, tales como tensioactivos, o para mantener la composición como una disolución o dispersión estable u homogénea.

Los ejemplos de solubilizantes adecuados incluyen, pero no se limitan a, los siguientes: alcoholes y polioles, tales como etanol, isopropanol, butanol, alcohol bencílico, etilenglicol, propilenglicol, butanodiolos e isómeros de los mismos, glicerol, pentaeritritol, sorbitol, manitol, transcitol, dimetilisorbida, polietilenglicol, polipropilenglicol, poli(alcohol vinílico), hidroxipropilmetilcelulosa y otros derivados de celulosa, ciclodextrinas y derivados de ciclodextrina; éteres de polietilenglicoles que tienen un peso molecular promedio de aproximadamente 200 a aproximadamente 6000, tales como éter de PEG de alcohol tetrahidrofurfurílico (glicofuro) o metoxi PEG; amidas y otros compuestos que contienen nitrógeno tales como 2-pirrolidona, 2-piperidona,  $\epsilon$ -caprolactama, N-alquilpirrolidona, N-hidroalquilpirrolidona, N-alquimpiperidona, N-alquicaprolactama, dimetilacetamida y polivinilpirrolidona; ésteres tales como propionato de etilo, citrato de tributilo, citrato de acetiltributilo, citrato de acetiltributilo, citrato de trietilo, oleato de etilo, caprilato de etilo, butirato de etilo, triacetina, monoacetato de propilenglicol, diacetato de propilenglicol,  $\epsilon$ -caprolactona e isómeros de la misma,  $\delta$ -valerolactona e isómeros de la misma;  $\beta$ -butirolactona e isómeros de la misma; y otros solubilizantes conocidos en la técnica, tales como dimetilacetamida, dimetilisorbida, N-metilpirrolidonas, mono-octanoína, monoetil éter de dietilenglicol y agua.

También pueden usarse mezclas de solubilizantes. Los ejemplos incluyen, pero no se limitan a, triacetina, citrato de trietilo, oleato de etilo, caprilato de etilo, dimetilacetamida, N-metilpirrolidona, N-hidroxi-etilpirrolidona, polivinilpirrolidona, hidroxipropilmetilcelulosa, hidroxipropilciclodextrinas, etanol, polietilenglicol 200-100, glicofuro, transcitol, propilenglicol y dimetilisorbida. Los solubilizantes particularmente preferidos incluyen sorbitol, glicerol, triacetina, alcohol etílico, PEG-400, glicofuro y propilenglicol.

La cantidad de solubilizante que puede incluirse no está particularmente limitada. La cantidad de un solubilizante dado puede limitarse a una cantidad bioaceptable, que puede determinarla fácilmente un experto en la técnica. En algunas circunstancias, puede ser ventajoso incluir cantidades de solubilizantes muy en exceso de las cantidades bioaceptables, por ejemplo, para maximizar la concentración del fármaco, eliminando el exceso de solubilizante antes de proporcionar la composición a un sujeto usando técnicas convencionales, tales como destilación o evaporación. Por tanto, si está presente, el solubilizante puede estar en una razón en peso del 10%, el 25%, el 50%,

el 100% o hasta aproximadamente el 200% en peso, basándose en el peso combinado del fármaco y otros excipientes. Si se desea, también pueden usarse cantidades muy pequeñas de solubilizante, tal como el 5%, el 2%, el 1% o incluso menos. Normalmente, el solubilizante puede estar presente en una cantidad de aproximadamente el 1% a aproximadamente el 100%, más normalmente de aproximadamente el 5% a aproximadamente el 25% en peso.

La composición puede incluir además uno o más aditivos y excipientes farmacéuticamente aceptables. Tales aditivos y excipientes incluyen, sin limitación, antiadherentes, agentes antiespumantes, agentes tamponantes, polímeros, antioxidantes, conservantes, agentes quelantes, viscomoduladores, tonicificadores, aromatizantes, colorantes, odorantes, opacificantes, agentes de suspensión, aglutinantes, cargas, plastificantes, lubricantes, y mezclas de los mismos.

Además, puede incorporarse un ácido o una base en la composición para facilitar el procesamiento, para potenciar la estabilidad o por otros motivos. Los ejemplos de bases farmacéuticamente aceptables incluyen aminoácidos, ésteres de aminoácidos, hidróxido de amonio, hidróxido de potasio, hidróxido de sodio, hidrogenocarbonato de sodio, hidróxido de aluminio, carbonato de calcio, hidróxido de magnesio, silicato de aluminio y magnesio, silicato de aluminio sintético, hidrocalcita sintética, hidróxido de aluminio y magnesio, diisopropiletilamina, etanolamina, etilendiamina, trietanolamina, trietilamina, triisopropanolamina, trimetilamina, tris(hidroximetil)aminometano (TRIS) y similares. También son adecuadas bases que son sales de un ácido farmacéuticamente aceptable, tal como ácido acético, ácido acrílico, ácido adípico, ácido alginico, ácido alcanosulfónico, aminoácidos, ácido ascórbico, ácido benzoico, ácido bórico, ácido butírico, ácido carbónico, ácido cítrico, ácidos grasos, ácido fórmico, ácido fumárico, ácido glucónico, ácido hidroquinossulfónico, ácido isoascórbico, ácido láctico, ácido maleico, ácido oxálico, ácido parabromofenilsulfónico, ácido propiónico, ácido p-toluenosulfónico, ácido salicílico, ácido esteárico, ácido succínico, ácido tánico, ácido tartárico, ácido tioglicólico, ácido toluenosulfónico, ácido úrico y similares. También pueden usarse sales de ácidos polipróticos, tales como fosfato de sodio, hidrogenofosfato de disodio y dihidrogenofosfato de sodio. Cuando la base es una sal, el catión puede ser cualquier catión conveniente y farmacéuticamente aceptable, tal como amonio, metales alcalinos, metales alcalinotérreos y similares. El ejemplo puede incluir, pero sin limitarse a, sodio, potasio, litio, magnesio, calcio y amonio.

Ácidos adecuados son ácidos orgánicos o inorgánicos farmacéuticamente aceptables. Los ejemplos de ácidos inorgánicos adecuados incluyen ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido yodhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido bórico, ácido fosfórico, y similares. Los ejemplos de ácidos orgánicos adecuados incluyen ácido acético, ácido acrílico, ácido adípico, ácido alginico, ácidos alcanosulfónicos, aminoácidos, ácido ascórbico, ácido benzoico, ácido bórico, ácido butírico, ácido carbónico, ácido cítrico, ácidos grasos, ácido fórmico, ácido fumárico, ácido glucónico, ácido hidroquinossulfónico, ácido isoascórbico, ácido láctico, ácido maleico, ácido metanosulfónico, ácido oxálico, ácido parabromofenilsulfónico, ácido propiónico, ácido p-toluenosulfónico, ácido salicílico, ácido esteárico, ácido succínico, ácido tánico, ácido tartárico, ácido tioglicólico, ácido toluenosulfónico, ácido úrico y similares.

En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas de la presente divulgación pueden comprender un agente terapéutica y/o farmacéuticamente deseable adicional. Por ejemplo, el agente terapéutica y/o farmacéuticamente deseable adicional puede ser un agente antitumoral, incluyendo pero sin limitarse a agentes alquilantes (por ejemplo, mecloretamina, ciclofosfamida, ifosfamida, mostaza de fenilalanina, melfalán, clorambucol, mostaza de uracilo, estramustina, tiotepa, busulfano, lomustina, carmustina, estreptozocina, dacarbazina, cisplatino, carboplatino, altretamina, etc.), antimetabolitos (por ejemplo metotrexato, 5-fluoruracilo, floxuridina, 5-fluorodesoxiuridina, capecitabina, fludarabina, arabinósido de citosina, 6-mercaptopurina, 6-tioguanina, gemcitabina, cladribina, desoxicofomicina, pentostatina, etc.), antibióticos (por ejemplo, doxorubicina, daunorubicina, idarrubicina, valrubicina, mitoxantrona, dactinomicina, mitramicina, plicamicina, mitomicina C, bleomicina, procarbazona, etc.), inhibidores mitóticos (por ejemplo paclitaxel, docetaxel, sulfato de vinblastina, sulfato de vincristina, sulfato de vinorelbina, etc.), inhibidores de la función de la cromatina (por ejemplo, topotecán, irinotecán, etopósido, tenipósido, etc.), hormonas e inhibidores hormonales (por ejemplo dietilestilbesterol, estradiol, estrógeno, estrógenos esterificados, estramustina, tamoxifeno, toremifeno, anastrozol, letrozol, 17-OH-progesterona, medroxiprogesterona, acetato de megestrol, goserelina, leuprolida, testosterona, metiltestosterona, fluoxmesterona, flutamida, bicalutamida, nilutamida, etc.), inhibidores de la síntesis (por ejemplo, aminoglutetimida, ketoconazol, etc.), inmunomoduladores (por ejemplo, rituxan, trastuzumab, denileucina difitox, levamisol, bacilo de Calmette-Guerin, interferón alfa-2a, alfa-2b, interleucina-2, aldesleucina, etc.) y otros agentes como 1-aspariginasa, pegaspasgasa, hidroxurea, leucovorina, mitotano, porfímero, tretinoína, etc.

Las composiciones farmacéuticas de la presente divulgación pueden comprender una cantidad terapéuticamente eficaz del agente activo (por ejemplo, el heterodímero proteínico o una proteína de heterodímero de la presente divulgación). Una cantidad terapéuticamente eficaz es una cantidad de la composición farmacéutica objeto capaz de prevenir y/o curar (al menos parcialmente) un estado o trastorno (por ejemplo, cáncer) y/o cualquier complicación del mismo en un sujeto que padece o que corre el riesgo de desarrollar dicho estado o trastorno. La cantidad/concentración específica del agente activo comprendido puede variar según el método de administración y la necesidad de un paciente, y puede determinarse basándose en, por ejemplo, el volumen, la viscosidad y/o el peso corporal de un paciente, etc. Por ejemplo, una dosificación apropiada puede ser de aproximadamente 0,1 mg o 1 mg/kg/día a aproximadamente 50 mg/kg/día; a veces, la dosificación puede ser incluso mayor. En algunas

realizaciones, la dosificación aplicada puede ser de desde aproximadamente 3 mg/kg/día hasta aproximadamente 3,5 mg/kg/día, desde 3,5 mg/kg/día hasta aproximadamente 7,2 mg/kg/día, desde aproximadamente 7,2 mg/kg/día hasta aproximadamente 11,0 mg/kg/día, desde aproximadamente 11,0 mg/kg/día hasta aproximadamente 15,0 mg/kg/día. En algunas realizaciones, la dosificación aplicada es de desde aproximadamente 10 mg/kg/día hasta aproximadamente 50 mg/kg/día, por ejemplo, desde aproximadamente 20 mg hasta aproximadamente 50 mg al día, administrada dos veces/día. Debe entenderse que estas dosis específicas puede ajustarlas convenientemente un experto en la técnica (por ejemplo, un médico o un farmacéutico) basándose en las condiciones de un paciente específico, la formulación y/o enfermedad.

5 Uso médico: En un aspecto, la presente divulgación proporciona el complejo proteínico (por ejemplo, proteína de heterodímero), el polinucleótido aislado o la composición farmacéutica de la presente divulgación como medicamento y/o kit para su uso en la inhibición del crecimiento de un tumor o una célula tumoral.

10 En algunas realizaciones, el medicamento y/o kit para su uso en la inhibición específica y/o preferente del crecimiento o diferenciación de células diana (por ejemplo, células cancerosas) o destrucción de células diana (por ejemplo, células cancerosas).

15 El uso según la presente invención puede comprender poner en contacto el tumor o la célula con una cantidad eficaz del heterodímero proteínico o proteína de heterodímero de la presente divulgación. En algunas realizaciones, el contacto se produce *in vitro*. En algunas realizaciones, el contacto se produce *in vivo*.

20 En algunas realizaciones, dicho contacto incluye administrar sistémica o localmente el heterodímero proteínico (por ejemplo, una proteína de heterodímero), la composición farmacéutica o el medicamento de la presente divulgación a un sujeto (por ejemplo, un mamífero). En algunas realizaciones, dicho contacto incluye administrar el heterodímero proteínico (por ejemplo, una proteína de heterodímero), la composición farmacéutica o el medicamento de la presente divulgación directamente en el sitio de un tumor. En algunas realizaciones, la administración se realiza por administración oral, administración intravenosa, administración intramuscular, administración *in situ* en el sitio de un tumor, inhalación, administración rectal, administración vaginal, administración transdérmica o administración por medio de un depósito subcutáneo.

25 En algunas realizaciones, el tumor (por ejemplo, cáncer) o la célula tumoral (por ejemplo, una célula cancerosa) es o es de un tumor sólido. Por ejemplo, el cáncer puede seleccionarse del grupo que consiste en un linfoma de células B, un cáncer de pulmón, un cáncer de bronquios, un cáncer colorrectal, un cáncer de próstata, un cáncer de mama, un cáncer de páncreas, un cáncer de estómago, un cáncer de ovario, un cáncer de vejiga urinaria, un cáncer del cerebro o sistema nervioso central, un cáncer del sistema nervioso periférico, un cáncer de esófago, un cáncer de cuello uterino, un melanoma, un cáncer uterino o endometrial, un cáncer de la cavidad oral o faringe, un cáncer de hígado, un cáncer de riñón, cáncer del tracto biliar, un cáncer de intestino delgado o apéndice, un cáncer de glándula salival, un cáncer de glándula tiroides, un cáncer de glándula suprarrenal, un osteosarcoma, un condrosarcoma, un liposarcoma, un cáncer de testículos y un histiocitoma fibroso maligno.

30 En algunas realizaciones, el cáncer o la célula cancerosa está dentro del cuerpo de un sujeto, por ejemplo, un cáncer o una célula cancerosa dentro de un ser humano o en un animal no humano (por ejemplo, un mamífero).

35 En algunas realizaciones, el mamífero es un ser humano. En algunas realizaciones, el mamífero es un ratón, una rata, un gato, un perro, un conejo, un cerdo, una oveja, un caballo, un bovino, una cabra, un jerbo, un hámster, una cobaya, un mono o cualquier otro mamífero. Muchos de tales mamíferos pueden ser sujetos que se conocen en la técnica como modelos preclínicos para ciertas enfermedades o trastornos, incluyendo tumores sólidos y/u otros cánceres (por ejemplo, Talmadge *et al.*, 2007 Am. J. Pathol. 170:793; Kerbel, 2003 Canc. Biol. Therap. 2 (4 Supl. 1): S134; Man *et al.*, 2007 Canc. Met. Rev. 26:737; Cespedes *et al.*, 2006 Clin. Transl. Oncol. 8:318).

## 50 Ejemplos

Los ejemplos y preparaciones proporcionados a continuación ilustran y ejemplifican adicionalmente el heterodímero proteínico de la presente divulgación y métodos de uso y preparación del mismo. Ha de entenderse que el alcance de la presente divulgación no está limitado de ningún modo por el alcance de los siguientes ejemplos y preparaciones.

### Ejemplo 1 Modificación y preparación de polipéptidos

#### 60 1.1 Preparación de cetuximab

Se obtuvieron secuencias de aminoácidos de longitud completa de la cadena pesada y cadena ligera de cetuximab (también conocido como Erbitux o Erb, que es un anticuerpo contra el receptor de factor de crecimiento epidérmico EGFR), y se obtuvieron secuencias de ADN correspondientes que codifican para estas secuencias de aminoácidos usando la herramienta en línea DNaworks ([helixweb.nih.gov/dnaworks/](http://helixweb.nih.gov/dnaworks/)). Entonces, se sintetizaron moléculas de ácido nucleico que codifican para la cadena ligera de cetuximab (Erb-LC). La secuencia de aminoácidos de Erb-LC

es tal como se expone en SEQ ID NO: 11, y la secuencia de polinucleótido correspondiente que la codifica es tal como se expone en SEQ ID NO: 12. Entonces, se introdujeron mutaciones puntuales (S354C, T366W) en las secuencias de polinucleótido que codifican para la región Fc del gen de cadena pesada de cetuximab, y se sintetizaron moléculas de ácido nucleico que codifican para la cadena pesada de cetuximab modificada (denominada en el presente documento erb-knob), el polipéptido correspondiente que codifica se denominó Erb-knob. Las secuencias de aminoácidos de Erb-knob son tal como se expone en SEQ ID NO: 13, y la secuencia de polinucleótido que la codifica es tal como se expone en SEQ ID NO: 14.

### 1.2 Preparación de trastuzumab

Se obtuvieron secuencias de aminoácidos de longitud completa de la cadena pesada y cadena ligera de trastuzumab según la patente estadounidense US7879325B2. Entonces, se obtuvieron secuencias de ADN correspondientes que codifican para estas secuencias de aminoácidos usando la herramienta en línea DNaworks ([helixweb.nih.gov/dnaworks/](http://helixweb.nih.gov/dnaworks/)). Entonces se sintetizaron moléculas de ácido nucleico que codifican para la cadena ligera de trastuzumab (T-LC). La secuencia de aminoácidos de T-LC es tal como se expone en SEQ ID NO: 15, y la secuencia de polinucleótido correspondiente que la codifica es tal como se expone en SEQ ID NO: 16. Entonces, se introdujeron mutaciones puntuales (S354C, T366W) en las secuencias de polinucleótido que codifican para la región Fc de gen de cadena pesada de trastuzumab, y se sintetizaron moléculas de ácido nucleico que codifican para la cadena pesada de trastuzumab modificada (denominada en el presente documento t-knob), el polipéptido correspondiente que codifica se denominó T-knob. Las secuencias de aminoácidos de T-knob son tal como se expone en SEQ ID NO: 17, y la secuencia de polinucleótido que la codifica es tal como se expone en SEQ ID NO: 18.

### 1.3 Preparación de muIFNa4-Fc-hole

En primer lugar, se obtuvo información de secuencia de interferón  $\alpha 4$  de ratón (IFNa4) (NM\_010504.2) del National Center for Biotechnology Information (NCBI), y se obtuvieron las secuencias de polinucleótido de longitud completa que codifican para el mismo. Entonces, se obtuvieron secuencias de aminoácidos de IgG1-Fc humana (es decir, residuo 104 a residuo 330 de P01857) según las secuencias de aminoácidos de región constante (P01857) de inmunoglobulina  $\gamma 1$  humana (IgG1) a partir de la base de datos de proteínas Uniprot. Después de eso, se introdujeron mutaciones puntuales (Y349C, T366S, L368A e Y407V) en el fragmento IgG1-Fc, y el polipéptido obtenido de ese modo se denomina Fc-hole. Entonces, se añadió una secuencia de ligador "GSGGG" (SEQ ID NO: 27) al extremo N-terminal del Fc-hole, para obtener ligador-Fc-hole. Entonces se diseñó la secuencia de ADN correspondiente que codifica para el mismo usando la herramienta en línea DNaworks ([helixweb.nih.gov/dnaworks/](http://helixweb.nih.gov/dnaworks/)). Se añadieron secuencias de polinucleótido que codifican para IFNa4 de ratón al extremo 5' de las secuencias de polinucleótido que codifican para el ligador-Fc-hole, obteniendo y sintetizando de ese modo una secuencia de polinucleótido que codifica para la proteína de fusión muIFNa4-Fc-hole. La secuencia de aminoácidos de muIFNa4-Fc-hole es tal como se expone en SEQ ID NO: 1, y la secuencia de polinucleótido que la codifica es tal como se expone en SEQ ID NO: 2.

### 1.4 Preparación de huIFNa2-Fc-hole

En primer lugar, se obtuvo información de secuencia de interferón  $\alpha 2$  humano (IFNa2) (NM\_000605.3) del National Center for Biotechnology Information (NCBI), y se obtuvieron las secuencias de polinucleótido de longitud completa que codifican para el mismo. Entonces, se obtuvieron secuencias de aminoácidos de IgG1-Fc humana (es decir, residuo 104 a residuo 330 de P01857) según las secuencias de aminoácidos de región constante (P01857) de inmunoglobulina  $\gamma 1$  humana (IgG1) a partir de la base de datos de proteínas Uniprot. Después de eso, se introdujeron mutaciones puntuales (Y349C, T366S, L368A, e Y407V) en el fragmento IgG1-Fc, y el polipéptido obtenido de ese modo se denomina Fc-hole. Entonces, se añadió una secuencia de ligador "GSGGG" (SEQ ID NO: 27) al extremo N-terminal del Fc-hole, para obtener ligador-Fc-hole. Entonces se diseñó la secuencia de ADN correspondiente que codifica para el mismo usando la herramienta en línea DNaworks ([helixweb.nih.gov/dnaworks/](http://helixweb.nih.gov/dnaworks/)). Se añadieron secuencias de polinucleótido que codifican para IFNa2 humana al extremo 5' de las secuencias de polinucleótido que codifican para el ligador-Fc-hole, obteniendo y sintetizando de ese modo una secuencia de polinucleótido que codifica para la proteína de fusión huIFNa2-Fc-hole. La secuencia de aminoácidos de huIFNa2-Fc-hole es tal como se expone en SEQ ID NO: 3, y la secuencia de polinucleótido que la codifica es tal como se expone en SEQ ID NO: 4.

### 1.5 Preparación de muIFNb-Fc-hole

En primer lugar, se obtuvo información de secuencia de interferón  $\beta$  de ratón (IFNb) (NM\_005018.2) del National Center for Biotechnology Information (NCBI), y se obtuvieron las secuencias de polinucleótido de longitud completa que codifican para en mismo. Entonces, se obtuvieron secuencias de aminoácidos de IgG1-Fc humana (es decir, residuo 104 a residuo 330 de P01857) según las secuencias de aminoácidos de región constante (P01857) de inmunoglobulina  $\gamma 1$  humana (IgG1) a partir de la base de datos de proteínas Uniprot. Después de eso, se introdujeron mutaciones puntuales (Y349C, T366S, L368A e Y407V) en el fragmento IgG1-Fc, y el polipéptido

obtenido de ese modo se denomina Fc-hole. Entonces, se añadió una secuencia de ligador "GSGGG" (SEQ ID NO: 27) al extremo N-terminal del Fc-hole, para obtener ligador-Fc-hole. Entonces se diseñó la secuencia de ADN correspondiente que codifica para el mismo usando la herramienta en línea DNAsworks ([helixweb.nih.gov/dnasworks/](http://helixweb.nih.gov/dnasworks/)). Se añadieron secuencias de polinucleótido que codifican para IFN $\beta$  de ratón al extremo 5' de las secuencias de polinucleótido que codifican para el ligador-Fc-hole, obteniendo y sintetizando de ese modo una secuencia de polinucleótido que codifica para la proteína de fusión muIFN $\beta$ -Fc-hole. La secuencia de aminoácidos de muIFN $\beta$ -Fc-hole es tal como se expone en SEQ ID NO: 5, y la secuencia de polinucleótido que la codifica es tal como se expone en SEQ ID NO: 6.

#### 10 1.6 Preparación de huIFN $\beta$ -Fc-hole

En primer lugar, se obtuvo información de secuencia de interferón  $\beta$  humano (IFN $\beta$ ) (EF064725.1) del National Center for Biotechnology Information (NCBI), y se obtuvieron las secuencias de polinucleótido de longitud completa que codifican para el mismo. Entonces, se obtuvieron secuencias de aminoácidos de IgG1-Fc humana (es decir, residuo 104 a residuo 330 de P01857) según las secuencias de aminoácidos de región constante (P01857) de inmunoglobulina  $\gamma$ 1 humana (IgG1) a partir de la base de datos de proteínas Uniprot. Después de eso, se introdujeron mutaciones puntuales (Y349C, T366S, L368A e Y407V) en el fragmento IgG1-Fc, y el polipéptido obtenido de ese modo se denomina Fc-hole. Entonces, se añadió una secuencia de ligador "GSGGG" (SEQ ID NO: 27) al extremo N-terminal del Fc-hole, para obtener ligador-Fc-hole. Entonces se diseñó la secuencia de ADN correspondiente que codifica para el mismo usando la herramienta en línea DNAsworks ([helixweb.nih.gov/dnasworks/](http://helixweb.nih.gov/dnasworks/)). Se añadieron secuencias de polinucleótido que codifican para IFN $\beta$  humano al extremo 5' de las secuencias de polinucleótido que codifican para el ligador-Fc-hole, obteniendo y sintetizando de ese modo una secuencia de polinucleótido que codifica para la proteína de fusión huIFN $\beta$ -Fc-hole. La secuencia de aminoácidos de huIFN $\beta$ -Fc-hole es tal como se expone en SEQ ID NO: 9, y la secuencia de polinucleótido que la codifica es tal como se expone en SEQ ID NO: 10.

#### 1.7 Preparación de huIFN $\lambda$ -Fc-hole

En primer lugar, se obtuvo información de secuencia de interferón  $\lambda$  humano (IFN $\lambda$ ) (BC117482.1) del National Center for Biotechnology Information (NCBI), y se obtuvieron las secuencias de polinucleótido de longitud completa que codifican para el mismo. Entonces, se obtuvieron secuencias de aminoácidos de IgG1-Fc humana (es decir, residuo 104 a residuo 330 de P01857) según las secuencias de aminoácidos de región constante (P01857) de inmunoglobulina  $\gamma$ 1 humana (IgG1) a partir de la base de datos de proteínas Uniprot. Después de eso, se introdujeron mutaciones puntuales (Y349C, T366S, L368A e Y407V) en el fragmento IgG1-Fc, y el polipéptido obtenido de ese modo se denomina Fc-hole. Entonces, se añadió una secuencia de ligador "GSGGG" (SEQ ID NO: 27) al extremo N-terminal del Fc-hole, para obtener ligador-Fc-hole. Entonces se diseñó la secuencia de ADN correspondiente que codifica para el mismo usando la herramienta en línea DNAsworks ([helixweb.nih.gov/dnasworks/](http://helixweb.nih.gov/dnasworks/)). Se añadieron secuencias de polinucleótido que codifican para IFN $\lambda$  humano al extremo 5' de las secuencias de polinucleótido que codifican para el ligador-Fc-hole, obteniendo y sintetizando de ese modo una secuencia de polinucleótido que codifica para la proteína de fusión huIFN $\lambda$ -Fc-hole. La secuencia de aminoácidos de huIFN $\lambda$ -Fc-hole es tal como se expone en SEQ ID NO: 7, y la secuencia de polinucleótido que la codifica es tal como se expone en SEQ ID NO: 8.

#### 1.8 Preparación de proteínas de fusión C-terminales o N-terminales de control

En primer lugar, se obtuvieron secuencias de aminoácidos de longitud completa de cadena ligera y cadena pesada de Cetuximab. Entonces se diseñaron las secuencias de ADN correspondientes que codifican para las mismas usando la herramienta en línea DNAsworks ([helixweb.nih.gov/dnasworks/](http://helixweb.nih.gov/dnasworks/)), y se sintetizaron moléculas de ácido nucleico que codifican para cadena ligera y cadena pesada de cetuximab. Se añadió una secuencia de ligador "SGGGGSGGGGSGGGGSGGGG" (SEQ ID NO: 28) al extremo C-terminal de la cadena pesada, obteniendo de ese modo cadena pesada de cetuximab-ligador. Entonces, se diseñaron secuencias de ADN que codifican para IFN $\beta$  de ratón (NM\_005018.2) usando la herramienta en línea DNAsworks ([helixweb.nih.gov/dnasworks/](http://helixweb.nih.gov/dnasworks/)). Entonces se añadieron secuencias de ADN que codifican para IFN $\beta$  de ratón al extremo 3' de la cadena pesada de cetuximab-ligador así obtenida, para producir y sintetizar secuencias de polinucleótido que codifican para la proteína de fusión ErbHC-muIFN $\beta$ . La secuencia de aminoácidos de ErbHC-muIFN $\beta$  es tal como se expone en SEQ ID NO: 19, y la secuencia de polinucleótido que la codifica es tal como se expone en SEQ ID NO: 20.

De manera similar, se obtuvieron secuencias de aminoácidos de longitud completa de cadena ligera y cadena pesada de cetuximab. Entonces se diseñaron las secuencias de ADN correspondientes que codifican para las mismas usando la herramienta en línea DNAsworks ([helixweb.nih.gov/dnasworks/](http://helixweb.nih.gov/dnasworks/)), y se sintetizaron moléculas de ácido nucleico que codifican para cadena ligera y cadena pesada de cetuximab. Se añadió una secuencia de ligador "GSGGG" al extremo N-terminal de la cadena pesada, obteniendo de ese modo ligador-cadena pesada de cetuximab. Entonces, se diseñaron secuencias de ADN que codifican para IFN $\lambda$  humano (BC117482.1) usando la herramienta en línea DNAsworks ([helixweb.nih.gov/dnasworks/](http://helixweb.nih.gov/dnasworks/)). Entonces se añadieron secuencias de ADN que codifican para IFN $\lambda$  humano al extremo 5' del ligador-cadena pesada de cetuximab así obtenido, para producir y

5 sintetizar secuencias de polinucleótido que codifican para la proteína de fusión IFNL-ErbHC. La secuencia de aminoácidos de IFNL-ErbHC es tal como se expone en SEQ ID NO: 21, y la secuencia de polinucleótido que la codifica es tal como se expone en SEQ ID NO: 22.

5 Se obtuvieron secuencias de aminoácidos de longitud completa de cadena ligera y cadena pesada de cetuximab. Entonces se diseñaron las secuencias de ADN correspondientes que codifican para las mismas usando la herramienta en línea DNAsworks (helixweb.nih.gov/dnasworks/), y se sintetizaron moléculas de ácido nucleico que codifican para cadena ligera y cadena pesada de cetuximab. Se añadió una secuencia de ligador “SGGGGSGGGGSGGGGSGGGG” (SEQ ID NO: 28) al extremo C-terminal de la cadena pesada, obteniendo de ese modo cadena pesada de cetuximab-ligador. Entonces, se diseñaron secuencias de ADN que codifican para IFN $\beta$  humano (EF064725.1) usando la herramienta en línea DNAsworks (helixweb.nih.gov/dnasworks/). Entonces se añadieron secuencias de ADN que codifican para IFN $\beta$  humano al extremo 3' de la cadena pesada de cetuximab-ligador así obtenida, para producir y sintetizar secuencias de polinucleótido que codifican para la proteína de fusión ErbHC-huIFN $\beta$ . La secuencia de aminoácidos de ErbHC-huIFN $\beta$  es tal como se expone en SEQ ID NO: 23, y la secuencia de polinucleótido que la codifica es tal como se expone en SEQ ID NO: 24.

20 Se obtuvieron secuencias de aminoácidos de longitud completa de cadena ligera y cadena pesada de cetuximab. Entonces se diseñaron las secuencias de ADN correspondientes que codifican para las mismas usando la herramienta en línea DNAsworks (helixweb.nih.gov/dnasworks/), y se sintetizaron moléculas de ácido nucleico que codifican para cadena ligera y cadena pesada de cetuximab. Se añadió una secuencia de ligador “GSGGG” al extremo N-terminal de la cadena pesada, obteniendo de ese modo ligador-cadena pesada de cetuximab. Entonces, se diseñaron secuencias de ADN que codifican para IFN $\beta$  humano (EF064725.1) usando la herramienta en línea DNAsworks (helixweb.nih.gov/dnasworks/). Entonces se añadieron secuencias de ADN que codifican para IFN $\beta$  humano al extremo 5' del ligador-cadena pesada de cetuximab así obtenido, para producir y sintetizar secuencias de polinucleótido que codifican para la proteína de fusión huIFN $\beta$ -ErbHC. La secuencia de aminoácidos de huIFN $\beta$ -ErbHC es tal como se expone en SEQ ID NO: 25, y la secuencia de polinucleótido que la codifica es tal como se expone en SEQ ID NO: 26.

#### 30 1.9 Preparación de huL10-Fc-hole

30 En primer lugar, se obtuvo información de secuencia de interleucina 10 humana (huL10) (P22301) del National Center for Biotechnology Information (NCBI), y se obtuvieron las secuencias de polinucleótido de longitud completa que codifican para la misma. Entonces, se obtuvieron secuencias de aminoácidos de IgG1-Fc humana (es decir, residuo 104 a residuo 330 de P01857) según las secuencias de aminoácidos de región constante (P01857) de inmunoglobulina  $\gamma$ 1 humana (IgG1) a partir de la base de datos de proteínas Uniprot. Después de eso, se introdujeron mutaciones puntuales (Y349C, T366S, L368A e Y407V) en el fragmento IgG1-Fc, y el polipéptido obtenido de ese modo se denomina Fc-hole. Entonces, se añadió una secuencia de ligador “(GGGG)<sub>3</sub>” (SEQ ID NO: 77) al extremo N-terminal del Fc-hole, para obtener ligador-Fc-hole. Entonces se diseñó la secuencia de ADN correspondiente que codifica para el mismo usando la herramienta en línea DNAsworks (helixweb.nih.gov/dnasworks/). Se añadieron secuencias de polinucleótido que codifican para huL10 al extremo 5' de las secuencias de polinucleótido que codifican para el ligador-Fc-hole, obteniendo y sintetizando de ese modo una secuencia de polinucleótido que codifica para la proteína de fusión huL10-Fc-hole. La secuencia de aminoácidos de huL10-Fc-hole es tal como se expone en SEQ ID NO: 49, y la secuencia de polinucleótido que la codifica es tal como se expone en SEQ ID NO: 50.

#### 45 1.10 Preparación de (huL10)<sub>2</sub>-Fc-hole

50 En primer lugar, se obtuvo información de secuencia de interleucina 10 humana (huL10) (P22301) del *National Center for Biotechnology Information* (NCBI), y se obtuvieron las secuencias de polinucleótido de longitud completa que codifican para la misma. Entonces, se obtuvieron secuencias de aminoácidos de IgG1-Fc humana (es decir, residuo 104 a residuo 330 de P01857) según las secuencias de aminoácidos de región constante (P01857) de inmunoglobulina  $\gamma$ 1 humana (IgG1) a partir de la base de datos de proteínas Uniprot. Después de eso, se introdujeron mutaciones puntuales (Y349C, T366S, L368A e Y407V) en el fragmento IgG1-Fc, y el polipéptido obtenido de ese modo se denomina Fc-hole. Entonces, se añadió una secuencia de ligador “(GGGG)<sub>3</sub>” (SEQ ID NO: 77) al extremo N-terminal del Fc-hole, para obtener ligador-Fc-hole. Entonces se diseñó la secuencia de ADN correspondiente que codifica para el mismo usando la herramienta en línea DNAsworks (helixweb.nih.gov/dnasworks/). Entonces, se añadió una secuencia de ligador “(GGGG)<sub>3</sub>” (SEQ ID NO: 77) entre dos copias de huL10, para obtener (huL10)<sub>2</sub>. Entonces se añadieron secuencias de polinucleótido que codifican para (huL10)<sub>2</sub> al extremo 5' de las secuencias de polinucleótido que codifican para el ligador-Fc-hole, obteniendo y sintetizando de ese modo una secuencia de polinucleótido que codifica para la proteína de fusión (huL10)<sub>2</sub>-Fc-hole. La secuencia de aminoácidos de (huL10)<sub>2</sub>-Fc-hole es tal como se expone en SEQ ID NO: 51, y la secuencia de polinucleótido que la codifica es tal como se expone en SEQ ID NO: 52.

#### 65 1.11 Preparación de pertuzumab

Se obtuvieron secuencias de aminoácidos de longitud completa de la cadena pesada y cadena ligera de pertuzumab según el documento US7879325. Entonces, se obtuvieron secuencias de ADN correspondientes que codifican para estas secuencias de aminoácidos usando la herramienta en línea DNAsworks (helixweb.nih.gov/dnaworks/). Entonces se sintetizaron moléculas de ácido nucleico que codifican para la cadena ligera de pertuzumab (P-LC). La secuencia de aminoácidos de P-LC es tal como se expone en SEQ ID NO: 55, y la secuencia de polinucleótido correspondiente que la codifica es tal como se expone en SEQ ID NO: 56. Entonces, se introdujeron mutaciones puntuales (S354C, T366W) en las secuencias de polinucleótido que codifican para la región Fc de gen de cadena pesada de pertuzumab, y se sintetizaron moléculas de ácido nucleico que codifican para la cadena pesada de pertuzumab modificada (denominada en el presente documento p-knob), el polipéptido correspondiente que codifica se denominó P-knob. Las secuencias de aminoácidos de P-knob es tal como se expone en SEQ ID NO: 53, y la secuencia de polinucleótido que la codifica es tal como se expone en SEQ ID NO: 54.

#### 1.12 Preparación de Mab806

Se obtuvieron secuencias de aminoácidos de longitud completa de la cadena pesada y cadena ligera de Mab806 según el documento US7879325. Entonces, se obtuvieron secuencias de ADN correspondientes que codifican para estas secuencias de aminoácidos usando la herramienta en línea DNAsworks (helixweb.nih.gov/dnaworks/). Entonces se sintetizaron moléculas de ácido nucleico que codifican para la cadena ligera de Mab806 (Mab806-LC). La secuencia de aminoácidos de Mab806-LC es tal como se expone en SEQ ID NO: 65, y la secuencia de polinucleótido correspondiente que la codifica es tal como se expone en SEQ ID NO: 66. Entonces, se introdujeron mutaciones puntuales (S354C, T366W) en las secuencias de polinucleótido que codifican para la región Fc de gen de cadena pesada de Mab806, y se sintetizaron moléculas de ácido nucleico que codifican para la cadena pesada de Mab806 modificada (denominada en el presente documento mab806-knob), el polipéptido correspondiente que codifica se denominó Mab806-knob. Las secuencias de aminoácidos de Mab806-knob es tal como se expone en SEQ ID NO: 67, y la secuencia de polinucleótido que la codifica es tal como se expone en SEQ ID NO: 68.

#### Ejemplo 2 Construcción de plásmidos recombinantes

Las moléculas de ácido nucleico (que codifican para hulFNb-ErbHC, ErbHC-hulFNb, IFNL-ErbHC, ErbHC-mulFNb, T-knob, cadena ligera de trastuzumab (denominada T-LC), Erb-knob, cadena ligera de cetuximab (denominada Erb-LC), mulFNa4-Fc-hole, hulFNa2-Fc-hole, mulFNb-Fc-hole, hulFNb-Fc-hole, hulFNL-Fc-hole, hulL10-Fc-hole, (hulL10)2-Fc-hole, cadena ligera de pertuzumab (denominada P-LC), P-knob, cadena ligera de Mab806 (denominada Mab806-LC) y Mab806-knob, respectivamente) obtenidas según el ejemplo 1 se digirieron con HindIII y EcoRI (Takara), y luego se subclonaron en el vector pcDNA4/myc-HisA (Invitrogen, V863-20), respectivamente. Los plásmidos obtenidos se verificaron mediante secuenciación, y los plásmidos recombinantes correctos se denominaron: pcDNA4-hulFNb-ErbHC, pcDNA4-ErbHC-hulFNb, pcDNA4-hulFNL-ErbHC, pcDNA4-ErbHC-mulFNb, pcDNA4-T-knob, pcDNA4-TLC, pcDNA4-Erb-knob, pcDNA4-ErbLC, pcDNA4-mulFNa4-Fc-hole, pcDNA4-hulFNa2-Fc-hole, pcDNA4-mulFNb-Fc-hole, pcDNA4-hulFNb-Fc-hole, pcDNA4-hulFNL-Fc-hole, pcDNA4-hulL10-Fc-hole, pcDNA4-(hulL10)2-Fc-hole, pcDNA4-PLC, pcDNA4-P-knob, pcDNA4-Mab806-LC y pcDNA4-Mab806-knob, respectivamente.

#### Ejemplo 3 Expresión y purificación de complejos proteínicos

Dos días antes de la transfección, se preparó una suspensión de 12 X 600 ml de células HEK293 domesticadas (ATCC, CRL-1573™) para la transfección transitoria, se sembraron las células a una densidad de 0,8 X 10<sup>6</sup> células/ml. Dos días después, se centrifugaron tres alícuotas de la suspensión celular y luego se resuspendieron en 600 ml de medio de cultivo Freestyle293.

Los vectores de expresión recombinantes obtenidos a partir del ejemplo 2 se dividieron en los siguientes grupos:

- Grupo 1: pcDNA4-Erb-knob (200 µg) + pcDNA4-ErbLC (200 µg) + pcDNA4-mulFNa4-Fc-hole (200 µg);
- Grupo 2: pcDNA4-Erb-knob (200 µg) + pcDNA4-ErbCL (200 µg) + pcDNA4-hulFNa2-Fc-hole (200 µg);
- Grupo 3: pcDNA4-Erb-knob (200 µg) + pcDNA4-ErbLC (200 µg) + pcDNA4-mulFNb-Fc-hole (200 µg);
- Grupo 4: pcDNA4-Erb-knob (200 µg) + pcDNA4-ErbLC (200 µg) + pcDNA4-hulFNb-Fc-hole (200 µg);
- Grupo 5: pcDNA4-Erb-knob (200 µg) + pcDNA4-ErbLC (200 µg) + pcDNA4-hulFNL-Fc-hole (200 µg);
- Grupo 6: pcDNA4-T-knob (200 µg) + pcDNA4-TLC (200 µg) + pcDNA4-hulFNa2-Fc-hole (200 µg);
- Grupo 7: pcDNA4-T-knob (200 µg) + pcDNA4-TCL (200 µg) + pcDNA4-hulFNb-Fc-hole (200 µg);
- Grupo 8: pcDNA4-T-knob (200 µg) + pcDNA4-TLC (200 µg) + pcDNA4-(hulL10)2-Fc-hole (200 µg);

Grupo 9: pcDNA4-Erb-knob (200 µg) + pcDNA4-ErbLC (200 µg) + pcDNA4-huIL10-Fc-hole (200 µg);

Grupo 10: pcDNA4-Erb-knob (200 µg) + pcDNA4-ErbLC (200 µg) + pcDNA4-(huIL10)2-Fc-hole (200 µg);

Grupo 11: pcDNA4-Mab806-knob (200 µg) + pcDNA4-Mab806-LC (200 µg) + pcDNA4-(huIL10)2-Fc-hole (200 µg);

Grupo 12: pcDNA4-P-knob (200 µg) + pcDNA4-PLC (200 µg) + pcDNA4-(huIL10)2-Fc-hole (200 µg);

Cada grupo de mezclas de plásmidos se diluyó con 6 ml de medio Freestyle293 y se añadió disolución de PEI (polietilenimina) para realizar la transfección. Cada grupo de mezclas de plásmido/PEI se añadió a 600 ml de suspensión celular, respectivamente, que entonces se cultivó a 37°C, el 10% de CO<sub>2</sub>, 90 rpm, se complementó el medio con IGF-1 50 µg/l (factor de crecimiento I similar a la insulina). Cuatro horas después, se complementó el cultivo con 600 ml de medio EX293, glutamina 2 mM e IGF-1 50 µg/l, y se cultivó a 135 rpm. Tras 24 horas, se añadió VPA 3,8 mM. 5 - 6 días después, se recogió el sobrenadante de 5 X 1200 ml de células, y se purificaron muestras de heterodímero proteínico en bruto mediante cromatografía de afinidad de proteína A. Se examinaron las muestras obtenidas en primer lugar con SDS-PAGE, y eran claramente visibles las bandas diana (se muestran ejemplos en la figura 10). Los complejos proteínicos así obtenidos se denominan (del grupo 1 al grupo 12, respectivamente): Erb-mulFNa4, Erb-hulFNa2, Erb-mulFNb, Erb-hulFNb, Erb-hulFNL, Tmab-hulFNa2, Tmab-hulFNb, Tmab-(huIL10)2, Erb-huIL10, Erb-(huIL10)2, Mab806-(huIL10)2 y Pmab-(huIL10)2.

#### Ejemplo 4 Rendimiento de expresión de los complejos proteínicos

##### 4.1 Comparación de la expresión del heterodímero Erb-mulFNb con la proteína de fusión C-terminal ErbHC-mulFNb

Dos días antes de la transfección, se preparó una suspensión de 2 X 100 ml de células HEK293 domesticadas (ATCC, CRL-1573™) para la transfección transitoria, se sembraron las células a una densidad de 0,8 X 10<sup>6</sup> células/ml. Dos días después, se centrifugó la suspensión celular, y luego se resuspendió en 100 ml de medio de cultivo Freestyle293. Se dividieron los plásmidos de expresión en "grupo de heterodímero" y "grupo de proteína de fusión C-terminal", en los que el grupo de heterodímero comprendía: pcDNA4-Erb-knob (33 µg) + pcDNA4-ErbLC (33 µg) + pcDNA4-mulFNb-Fc-hole (33 µg); y el grupo de proteína de fusión C-terminal comprendía: pcDNA4-Erb-LC (50 µg) + pcDNA4-ErbHC-mulFNb (50 µg). Cada grupo de mezcla de plásmidos se diluyó con 1 ml de medio Freestyle293 y se añadió disolución de PEI (polietilenimina) para realizar la transfección. Cada grupo de mezcla de plásmidos/PEI se añadió a 100 ml de suspensión celular, respectivamente, y entonces se cultivó a 37°C, el 10% de CO<sub>2</sub>, 90 rpm, se complementó el medio con IGF-1 50 µg/l. Cuatro horas después, se complementó el cultivo con 100 ml de medio EX293, glutamina 2 mM e IGF-1 50 µg/l, y se cultivó a 135 rpm. Tras 24 horas, se añadió VPA 3,8 mM. 5 - 6 días después, se recogió el sobrenadante de cultivo de la expresión transitoria, y se examinó el nivel de expresión del heterodímero y la proteína de fusión C-terminal mediante ELISA (ensayo de inmunoabsorción ligada a enzimas).

Tal como se muestra en la figura 1, el rendimiento de expresión del heterodímero Erb-mulFNb era de 83 mg/l, y el rendimiento de expresión de la proteína de fusión C-terminal ErbHC-mulFNb era de 3 mg/l.

De manera similar, se examinó el rendimiento de expresión de los otros complejos proteínicos de la presente divulgación, así como las proteínas de fusión C-terminales y/o proteínas de fusión N-terminales de control, los resultados se resumen en la tabla 1 a continuación:

Tabla 1

Producto	Tipo	Rendimiento de expresión
Erb-mulFNa4	Heterodímero	50 mg/l
Erb-hulFNa2	Heterodímero	55 mg/l
Erb-hulFNb	Heterodímero	15,8mg/l
ErbHC-hulFNb	Fusión C-terminal	-*
hulFNb-ErbHC	Fusión N-terminal	-*
Erb-hulFNL	Heterodímero	70 mg/l
IFNL-ErbHC	Fusión N-terminal	42 mg/l
Tmab-hulFNa2	Heterodímero	50 mg/l
Tmab-hulFNb	Heterodímero	50 mg/l
Erb-huIL10	Heterodímero	55,2mg/l
Erb-(huIL10)2	Heterodímero	35 mg/l
Mab806-(huIL10)2	Heterodímero	13 mg/l
Tmab-(huIL10)2	Heterodímero	50 mg/l
Pmab-(huIL10)2	Heterodímero	32 mg/l

---

-\*: Indetectable

### Ejemplo 5 Estabilidad *in vivo* de los complejos proteínicos

#### 5.1 Perfil farmacocinético del heterodímero Erb-hulFNb

Se dividieron 12 ratones Balb/C, hembra, de 8 semanas de edad en 3 grupos (grupo A/B/C), con 4 ratones en cada grupo. Se inyectaron por vía intravenosa 50 µg de complejos proteínicos de Erb-hulFNb (2,5 mg/kg) en cada ratón, se tomaron 100 µl de sangre en 13 puntos de tiempo diferentes después de la administración de los heterodímeros. En cada punto de tiempo, se extrajo sangre de un grupo de ratones, y los tres grupos rotaron. Se aisló el suero, luego, se determinó la concentración de los heterodímeros en el suero usando ELISA. Brevemente, el ensayo ELISA se realizó tal como sigue: se recubrieron las placas con anti-hlgG de ratón (Jackson Immuno Research: 209-005-082), luego, se añadieron muestras de suero apropiadamente diluidas. Después de eso, se añadió anti-hlFNb-biotina de ratón (eBioscience: BMS1044BT), y luego, se añadió estreptavidina-HRP (Sigma: S2438) para el revelado de TMB. Se usó Erb-hulFNb como patrón para obtener una curva patrón. Se usó WinNolin para calcular los parámetros farmacocinéticos. Una curva C-T promedio obtenida es tal como se muestra en la figura 2. La semivida calculada ( $T_{1/2}$ ) para el heterodímero Erb-hulFNb es de 27,468 horas, mientras que el  $T_{1/2}$  de la proteína de fusión C-terminal entre Erb y hulFNβ se notifica que es de solo 8 horas.

#### 5.2 Perfil farmacocinético del heterodímero Erb-hulFNL

Se dividieron 12 ratones Balb/C, hembra, de 8 semanas de edad en 3 grupos (grupo A/B/C), con 4 ratones en cada grupo. Se inyectaron por vía intravenosa 200 µg (10 mg/kg) de complejos proteínicos de Erb-hulFNL en cada ratón, se tomaron 100 µl de sangre en 13 puntos de tiempo diferentes después de la administración de los heterodímeros. En cada punto de tiempo, se extrajo sangre de un grupo de ratones, y los tres grupos rotaron. Se aisló el suero, luego, se determinó la concentración del fragmento Fc y se determinó el hulFNL en el suero usando ELISA, respectivamente. Brevemente, para el fragmento Fc, el ensayo ELISA se realizó tal como sigue: se recubrieron las placas con el anticuerpo anti-fragmento hlgG-Fc (Bethyl: A80-104A), luego, se agregaron muestras de suero apropiadamente diluidas. Después de eso, se añadió anticuerpo anti-fragmento hlgG-Fc HRP (Bethyl: A80-104P), y luego, se realizó el revelado de TMB. Para hulFNL, se usó el kit de ELISA de hulFNL (eBioscience: 88-7296). Se usó Erb-hulFNL como patrón para obtener una curva patrón. Se usó WinNolin para calcular los parámetros farmacocinéticos. Una curva C-T promedio obtenida es como se muestra en la figura 3. La semivida calculada ( $T_{1/2}$ ) para el heterodímero Erb-hulFNL es 57,308 horas.

#### 5.3 Perfil farmacocinético de los heterodímeros Erb-hulL10 y Erb-(hulL10)2

Se dividieron 12 ratones C57B1/6, hembra, de 8 semanas de edad, en 3 grupos (grupo A/B/C), con 4 ratones en cada grupo. Se inyectaron por vía intraperitoneal 20 µg (1 mg/kg) de complejos proteínicos Erb-hulL10 o Erb-(hulL10)2 en los ratones (12 ratones para cada uno de Erb-hulL10 y Erb-(hulL10)2), se tomaron 100 µl de sangre en 13 puntos de tiempo diferentes después de la administración de los heterodímeros. En cada punto de tiempo, se extrajo sangre de un grupo de ratones, y los tres grupos rotaron. Se aisló el suero, luego, se determinó la concentración de Erb-hulL10 o Erb-(hulL10)2 en el suero usando ELISA, respectivamente. Brevemente, el ensayo ELISA se realizó tal como sigue: se recubrieron las placas con anticuerpo anti-IL-10 humano purificado (BioLegend, n.º de cat.: 501505) a 5 µg/ml, luego se añadieron muestras de suero apropiadamente diluidas. Después de eso, se añadió anticuerpo anti-IgG humana HRP (Sigma, A0170), y luego, se realizó el revelado de TMB. Se usó WinNolin para calcular los parámetros farmacocinéticos. Se obtuvo una curva C-T promedio, tal como se muestra en la figura 11. La semivida calculada ( $T_{1/2}$ ) para el heterodímero Erb-hulL10 es de 17,63 horas, mientras que para el heterodímero Erb-(hulL10)2 es de 33,56 horas.

Se examinó adicionalmente el perfil farmacocinético del heterodímero Erb-(hulL10)2 inyectando por vía intravenosa 20 µg (1 mg/kg) de Erb-(hulL10)2 en ratones C57BL/6. Los experimentos se realizaron de manera similar a los descritos para la inyección intraperitoneal. El ensayo ELISA se realizó tal como sigue: se recubrieron las placas con anticuerpo anti-IL-10 humano purificado (BioLegend, n.º de cat.: 501505) a 5 µg/ml, luego, se añadieron muestras de suero apropiadamente diluidas. Posteriormente, se añadieron EGFR-biotina y SA-HRP, seguido del revelado de TMB. Se usó WinNolin para calcular los parámetros farmacocinéticos. Una curva C-T promedio obtenida es tal como se muestra en la figura 28. La semivida calculada ( $T_{1/2}$ ) para el heterodímero Erb-(hulL10)2 es 49,8 horas.

#### 5.4 Farmacocinética del heterodímero Erb-hulFNa2

A un mono *Cynomolgus* macho se le inyectó por vía intravenosa el heterodímero proteínico Erb-hulFNa2 a 0,2 mg/kg. Se tomaron 500 µl de sangre en 13 puntos de tiempo diferentes en dos semanas después de la administración del heterodímero, luego, se determinó la concentración del heterodímero en el suero usando ELISA. Brevemente, el ensayo ELISA se realizó tal como sigue: se recubrieron las placas con proteína EGFR-Fc a 0,8 µg/ml, luego, se añadieron muestras de suero apropiadamente diluidas. Después de eso, se añadió el anticuerpo anti-IFNα humana biotina (eBioscience, BMS-1016BT), y luego, se añadió estreptavidina-HRP (Sigma: S2438) para el

revelado de TMB. Se usó WinNolin para calcular los parámetros farmacocinéticos. Una curva C-T promedio obtenida es tal como se muestra en la figura 29. La semivida calculada ( $T_{1/2}$ ) para el heterodímero Erb-hu1FNb2 es de 41,6 horas en mono *Cynomolgus*.

#### 5 5.5 Perfil farmacocinético de los otros complejos proteínicos de la presente divulgación.

De manera similar, se determinó la semivida *in vivo* (en ratón) del heterodímero Erb-hu1FNb, y se calculó que la semivida ( $T_{1/2}$ ) para Erb-hu1FNb es 34,5 horas (datos no mostrados).

### 10 Ejemplo 6 Unión de los complejos proteínicos a dianas correspondientes

#### 6.1 Unión de complejos proteínicos de Erb-interferón a EGFR

15 Se usaron líneas celulares de melanoma de ratón que expresan de manera estable antígenos de EGFR humanos (línea celular B16, ATCC, CRL-6475™) para examinar la unión de los complejos proteínicos a EGFR. Se usó citometría de flujo, en la que se añadieron secuencialmente a las células complejos proteínicos de Erb-interferón diluidos en serie de la presente divulgación (o anticuerpo de control frente a Erb cetuximab (Merck, Erbitux)) y anticuerpo secundario específico anti-FC de IgG humana PE (eBioscience: 12-4998-82). Luego, se realizó citometría de flujo y se preparó una curva de dosificación-efecto con concentración de proteína e intensidad de fluorescencia media (MFI) del canal de PE. Tal como se demuestra en la figura 4, diversos complejos proteínicos de Erb-interferón de la presente divulgación (por ejemplo, Erb-hu1FNb, Erb-hu1FNL y Erb-hu1FNb) podían unirse específicamente a EGFR, y la afinidad de unión no fue significativamente diferente de la del anticuerpo de control cetuximab.

#### 25 6.2 Unión de complejos proteínicos de Erb-interleucina a EGFR

Se usó la línea celular A431 de carcinoma de células escamosas humanas para examinar la unión de los complejos proteínicos de Erb-interleucina a EGFR. Se usó análisis de citometría de flujo, en el que se añadieron secuencialmente a las células complejos proteínicos de Erb-interleucina diluidos en serie de la presente divulgación (o anticuerpo de control frente a Erb (Merck Erbitux)) y anticuerpo secundario específico anti-FC de IgG humana PE (eBioscience: 12-4998-82). Luego, se realizó análisis de citometría de flujo y se preparó una curva de dosificación-efecto con concentración de proteína e intensidad de fluorescencia media (MFI) del canal de PE. Tal como se demuestra en el panel (A) de la figura 12, los complejos proteínicos Erb-huL10 y Erb-(huL10)<sub>2</sub> se unen específicamente a la diana EGFR, de manera similar al anticuerpo de control cetuximab.

35 Se examinó también la afinidad de unión de Erb-(huL10)<sub>2</sub> a su diana EGFR usando líneas celulares de melanoma de ratón que expresan de manera estable EGFR humano (línea celular B16), el resultado se muestra en el panel (B) de la figura 12. Puede observarse que Erb-(huL10)<sub>2</sub> se une específicamente a la diana EGFR, de manera similar al anticuerpo de control cetuximab.

40 La unión específica de Erb-(huL10)<sub>2</sub> a EGFR también se confirmó con ELISA, tal como se muestra en la figura 13.

#### 6.3 Unión de complejos proteínicos de Mab806-interleucina a EGFR

45 De manera similar, se examinó también la afinidad de unión de Mab806-(huL10)<sub>2</sub> a EGFR usando la línea celular de melanoma de ratón que expresa de manera estable EGFR humano (línea celular B16). Mab806 es un anticuerpo que selecciona como diana mutante de EGFRvIII, sin embargo, también puede unirse a EGFR silvestre con baja afinidad. Se realizó citometría de flujo, y el resultado se muestra en la figura 14. Tal como puede observarse en la figura 14, Mab806-(huL10)<sub>2</sub> se une al EGFR de una manera dependiente de la dosificación.

#### 50 6.4 Unión de complejos proteínicos de Tmab-interferón y Tmab-interleucina a Her2

Se examinó también la afinidad de unión de Tmab-hu1FNb2 y Tmab-(huL10)<sub>2</sub> a su diana Her2, los experimentos se realizaron usando la línea celular de cáncer de mama humano MCF-7 (ATCC, HTB-22™) y la línea celular de carcinoma de mama humano SK-BR-3. Los resultados se muestran en el panel (A) de la figura 15 (con la línea celular de cáncer de mama humano MCF-7) y el panel (B) de la figura 15 (con la línea celular de carcinoma de mama humano SK-BR-3), respectivamente. Tal como se muestra en la figura 15, tanto Tmab-hu1FNb2 como Tmab-(huL10)<sub>2</sub> se unen específicamente a HER-2, de manera similar al anticuerpo de control trastuzumab.

#### 60 6.5 Unión de complejos proteínicos de Pmab-interleucina a Her2

Se examinó la afinidad de unión de Pmab-(huL10)<sub>2</sub> a su diana Her2 usando la línea celular de carcinoma de mama humano SK-BR-3. Los resultados se muestran en la figura 16. Tal como se muestra en la figura 16, Pmab-(huL10)<sub>2</sub> se une específicamente a HER-2, aunque su afinidad de unión no es tan buena como la de los anticuerpos de control trastuzumab y pertuzumab.

### 65 Ejemplo 7 Actividad biológica de los inmunorreguladores comprendidos en los complejos proteínicos.

### 7.1 Actividad biológica de interferones en heterodímeros de Erb-interferón

La línea celular de fibroblastos de ratón L929 o la línea celular de hepatoma humano HepG2 se infectó con virus de estomatitis vesicular (VEV) marcado con EGFP (proteína fluorescente verde mejorada), para examinar la actividad de los interferones en el aumento de la capacidad antiviral de las células. Se examinó la actividad de hulFNb, hulFNa2 y hulFNL, respectivamente. Brevemente, se cultivaron las células durante 8 horas en presencia de complejos proteínicos diluidos en serie de la presente divulgación, luego, se añadió la cantidad apropiada de células infectadas con VEV-EGFP. 24 horas después, se determinó el porcentaje de células infectadas con análisis de citometría de flujo, y se calculó la tasa de protección de los complejos proteínicos para la infección por virus. Luego se obtuvo la  $CE_{50}$  según la curva de dosificación-efecto de la tasa de protección y la concentración de los complejos proteínicos. Tal como se muestra en la figura 5, los heterodímeros Erb-hulFNb, Erb-hulFNa2 y Erb-hulFNL protegieron las células de la infección por virus.

### 7.2 Actividad biológica de las interleucinas en los heterodímeros de Erb-interleucina

Las interleucinas pueden inhibir la liberación de  $TNF-\alpha$  estimulada por lipopolisacáridos (LPS) a partir de macrófagos (David F. *et al.*, 1991, The Journal of Immunology. Vol. 147.3815-3822). Para someter a prueba esta actividad de las interleucinas en los complejos proteínicos de la presente divulgación, se sembraron células mononucleares de sangre periférica (PBMC) humanas en una placa de 96 pocillos, las células suspendidas se eliminaron por lavado después de 3-4 horas. Luego, se añadieron diversas concentraciones de Erb-hulL10 o Erb-(hulL10)<sub>2</sub> de la presente divulgación, y 2 horas después, se añadió LPS 2  $\mu\text{g/ml}$  para estimulación de 24 horas. Se recogió el sobrenadante y se examinó la liberación de  $TNF-\alpha$  usando ELISA. El ELISA se realizó según las instrucciones incluidas en el kit de  $TNF-\alpha$  (eBioscience, 88-7346). Brevemente, el anticuerpo de captura se diluyó con tampón de recubrimiento, luego se recubrió la placa de ELISA Costar 9018; entonces, se añadieron un patrón y muestras apropiadamente diluidas. Después de eso, se detectó la reacción usando anticuerpos de detección y se reveló con TMB. Los resultados se muestran en la figura 17 y la figura 18. Tal como se demuestra en la figura 17, Erb-hulL10 inhibe la liberación de  $TNF-\alpha$  de una manera dependiente de la dosificación. La figura 18 muestra que Erb-(hulL10)<sub>2</sub> de la presente divulgación también inhibe eficazmente la liberación de  $TNF-\alpha$  de una manera dependiente de la dosificación, y la inhibición dependiente de la dosificación es aún más evidente en comparación con la de Erb-hulL10.

### 7.3 Actividad biológica de inmunorreguladores en otros complejos proteínicos.

De manera similar, también se examinaron las actividades biológicas de los inmunorreguladores en otros complejos proteínicos de la presente divulgación. La figura 19 muestra que Mab806-(hulL10)<sub>2</sub> de la presente divulgación inhibe eficazmente la liberación de  $TNF-\alpha$  de una manera dependiente de la dosificación. La figura 20 muestra la inhibición dependiente de la dosificación de la liberación de  $TNF-\alpha$  por Tmab-(hulL10)<sub>2</sub> de la presente divulgación. La figura 21 muestra que Pmab-(hulL10)<sub>2</sub> de la presente divulgación inhibe eficazmente la liberación de  $TNF-\alpha$  de una manera dependiente de la dosificación.

#### Ejemplo 8 Actividad antitumoral *in vitro* de los complejos proteínicos

Se usó la línea celular de cáncer de mama humano MCF-7 (ATCC, HTB-22™) que expresa un bajo nivel de antígeno Her2 para evaluar el efecto antitumoral *in vitro* de los heterodímeros Tmab-hulFNa2. Brevemente, se cultivaron las células en presencia de anticuerpo trastuzumab, interferón  $\alpha$  o heterodímeros de Tmab-hulFNa2 diluidos en serie durante 72 horas, entonces se examinó la proliferación celular usando el ensayo CCK8 (Cell Counting Kit 8). Se calculó la tasa de inhibición de la proliferación celular y se obtuvo la curva de dosificación-efecto. Se examinó la apoptosis con tinción de 7AAD y ensayo de citometría de flujo. A partir de la figura 8 puede observarse que trastuzumab solo no inhibió la proliferación de células tumorales, mientras que los complejos proteínicos de la presente divulgación inhibieron significativamente el crecimiento de células MCF7 de una manera dependiente de la dosificación. El efecto de inhibición de los complejos proteínicos es comparable al de los interferones. Los resultados de apoptosis no son significativamente diferentes entre diversos grupos (datos no mostrados), lo que sugiere que los complejos proteínicos de la presente divulgación podrían inhibir eficazmente el crecimiento de células tumorales, sin afectar a la apoptosis celular.

De manera similar, se usó la línea celular tumoral A431 que expresa EGFR para evaluar la actividad antitumoral de heterodímeros de Erb-hulFNb. Brevemente, se cultivaron las células en presencia de anticuerpos cetuximab o heterodímeros de Erb-hulFNb diluidos en serie durante 72 horas, se examinó la proliferación celular usando el método colorimétrico MTT. Se calculó la tasa de inhibición de la proliferación celular y se obtuvo la curva de dosificación-efecto. Tal como puede observarse a partir de la figura 9, el efecto antitumoral de los complejos proteínicos de la presente divulgación es significativamente más fuerte que el de cetuximab, y la inhibición depende de la dosificación.

#### Ejemplo 9 Actividad antitumoral *in vivo* de los complejos proteínicos

9.1 Actividad antitumoral *in vivo* de heterodímeros de Erb-interferón de la presente divulgación

Se usó el modelo de ratón de B16-EGFR para examinar la actividad de los complejos proteínicos de la presente divulgación. Brevemente, se les inyectó por vía subcutánea a ratones C57 BL/6 hembra de 8 semanas de edad  $7 \times 10^5$  células B16-EGFR-SIY. Después de 14 días, se midió que el volumen tumoral era de alrededor de  $70 \text{ mm}^3$ . Se administró heterodímero de Erb-mulFNb, proteína de fusión C-terminal ErbHC-mulFNb, heterodímero de Erb-hulFNL o proteína de fusión N-terminal IFNL-ErbHC *in situ* en el sitio de los tumores, respectivamente (25  $\mu\text{g}/\text{vez}$ , una vez cada dos días, 3 veces en total). Se midió el tamaño tumoral cada tres días, se calculó el volumen de los tumores para obtener una curva de crecimiento tumoral. Los resultados se muestran en la figura 6. Tal como puede observarse en la figura 6, la actividad antitumoral *in vivo* de los complejos proteínicos de la presente divulgación es comparable a la de las proteínas de fusión correspondientes.

En seres humanos, EGFR no solo se expresa en gran medida en el sitio de los tumores, sino que también se expresa a un nivel inicial bajo en tejidos normales. Para obtener un modelo animal que imite más estrechamente las condiciones en seres humanos, también se usaron ratones transgénicos para EGFR inoculados con células tumorales B16-EGFR como sistema modelo para evaluar el efecto de los heterodímeros de la presente divulgación. Brevemente, se les inyectó por vía subcutánea a ratones C57 BL/6 transgénicos para EGFR hembra de 8 semanas de edad  $5 \times 10^5$  células B16-EGFR-SIY. Después de 14 días, se midió que el volumen tumoral era de alrededor de  $70 \text{ mm}^3$ . Los heterodímeros de Erb-mulFN4 o el anticuerpo de control cetuximab se administraron por vía intravenosa (200  $\mu\text{g}/\text{vez}$ , una vez cada tres días, 2 veces en total). Se midió el tamaño tumoral cada tres días, se calculó el volumen de los tumores para obtener una curva de crecimiento tumoral. Los resultados se muestran en la figura 7. Tal como puede observarse en la figura 7, la actividad antitumoral *in vivo* de los complejos proteínicos de la presente divulgación es muy notable. Además, en este experimento, los complejos proteínicos de la presente divulgación se administraron de manera sistémica en lugar de en el sitio del tumor, en consecuencia, los excelentes efectos antitumorales observados indican que los complejos proteínicos seleccionan como diana eficazmente las células tumorales *in vivo*.

También se sometió a prueba la actividad antitumoral *in vivo* del heterodímero de Erb-mulFN4 usando el modelo de ratón C57 BL/6 de tipo amplio. Brevemente, se les inyectó por vía subcutánea a ratones C57 BL/6 hembra de 8 semanas  $7 \times 10^5$  células B16-EGFR-SIY. Después de 7 días, se midió que el volumen tumoral era de alrededor de  $45 \text{ mm}^3$ . Se inyectaron por vía intraperitoneal (i.p.) el heterodímero de Erb-mulFN4 o el anticuerpo de control cetuximab (Erbix, Merck). El heterodímero de Erb-mulFN4 se inyectó en tres dosis diferentes (5 mg/kg, 0,5 mg/kg y 0,05 mg/kg, respectivamente), y la dosificación de cetuximab fue de 5 mg/kg, ambos se administraron dos veces por semana, en total 3 dosis. Se midió el tamaño tumoral dos veces por semana, y se calculó el volumen de los tumores para obtener una curva de crecimiento tumoral. Los resultados se demuestran en la figura 22, para cada dosificación administrada, el heterodímero de Erb-mulFN4 redujo eficazmente el volumen tumoral *in vivo*.

9.2 Actividad antitumoral *in vivo* de heterodímeros de Erb-interleucina de la presente divulgación

Similar al ejemplo 9.1, se sometió a prueba la actividad antitumoral *in vivo* de Erb-(hulL10)2 usando el modelo de ratón C57 BL/6. Brevemente, se les inyectó por vía subcutánea a ratones C57 BL/6 hembra de 8 semanas de edad  $7 \times 10^5$  células B16-EGFR-SIY. Después de 7 días, se midió que el volumen tumoral era de alrededor de  $45 \text{ mm}^3$ . Se inyectaron por vía intraperitoneal (i.p.) el heterodímero de Erb-(hulL10)2 o el anticuerpo de control cetuximab (Erbix, Merck). El heterodímero de Erb-(hulL10)2 se inyectó en cuatro dosis diferentes (1 mg/kg, 2 mg/kg, 4 mg/kg y 6 mg/kg, respectivamente), y la dosificación de cetuximab fue de 5 mg/kg, ambos se administraron dos veces por semana, 3 dosis en total. Se midió el tamaño tumoral dos veces por semana, se calculó el volumen de los tumores para obtener una curva de crecimiento tumoral. Los resultados se demuestran en la figura 23. Erb-(hulL10)2 redujo eficazmente el volumen tumoral *in vivo* de una manera dependiente de la dosificación. Además, en este experimento, los complejos proteínicos de la presente divulgación se administraron de manera sistémica en lugar de en el sitio del tumor, en consecuencia, los excelentes efectos antitumorales observados indican que los complejos proteínicos seleccionan como diana eficazmente las células tumorales *in vivo*.

También se examinó el efecto antitumoral *in vivo* de Erb-(hulL10)2 inyectando el heterodímero Erb-(hulL10)2 *in situ* en el sitio de los tumores. Los modelos tumorales de ratón se prepararon tal como se describe en el ejemplo 9.2. Se inyectó el heterodímero de Erb-(hulL10)2 en tres dosis diferentes (0,2 mg/kg, 0,4 mg/kg y 1 mg/kg, respectivamente) desde el día 7 después de la inoculación del tumor, se administró cada 3 días y se administraron tres dosis en total. Se usó solución salina tamponada con fosfato (PBS) como control negativo. Los resultados se demuestran en la figura 24. Tal como puede observarse en la figura 24, Erb-(hulL10)2 redujo eficazmente el volumen tumoral *in vivo* de manera dependiente de la dosificación cuando se inyectó en el sitio de los tumores.

En la figura 25 se muestra una comparación del efecto antitumoral *in vivo* entre Erb-(hulL10)2 y Erb-mulFN4. Los modelos tumorales de ratón se prepararon tal como se describe en el ejemplo 9.2. Se inyectaron por vía intraperitoneal (i.p.) Erb-(hulL10)2 y Erb-mulFN4 a una dosificación de 5 mg/kg, respectivamente. Se inyectaron desde el día 7 después de la inoculación del tumor, se administraron cada 3 días y se administraron tres dosis en total. Se usó PBS como control negativo. Tal como puede observarse en la figura 25, tanto Erb-(hulL10)2 como Erb-mulFN4 inhibieron eficazmente el aumento del tamaño tumoral, pareciendo el efecto de Erb-(hulL10)2 más

prominente.

En el estudio, se encontró que, aunque tanto Erb-(huL10)2 como Erb-mulFNa4 inhibieron eficazmente el aumento del tamaño tumoral, solo Erb-(huL10)2 da como resultado una regresión completa del tumor en parte de los ratones tratados y el porcentaje de ratones con regresión tumoral aumentó de manera dependiente de la dosis. En la figura 26 se muestra un análisis de la tasa de regresión tumoral. Erb-mulFNa4 inhibió el crecimiento tumoral en ratones, pero no se observó una regresión tumoral completa, mientras que la administración de Erb-(huL10)2 dio como resultado una regresión tumoral completa en hasta el 50% de los ratones sometidos a prueba.

Se investigaron adicionalmente los mecanismos que conducen a la actividad antitumoral de Erb-(huL10)2. Los modelos tumorales de ratón se prepararon tal como se describe en 9.2. Se inyectó el heterodímero Erb-(huL10)2 por vía intraperitoneal (i.p.) a 4 mg/kg desde el día 7 después de la inoculación del tumor, se administró cada 3 días y se administraron tres dosis en total. Se usó PBS como control negativo. Se administraron 200 µg de anticuerpos de agotamiento de células NK, CD8 y CD4 el día 5 en los grupos indicados, los anticuerpos de agotamiento se administraron repetidamente cada 3 días, y se administraron 5 dosis en total para cada uno de los anticuerpos de agotamiento. Tal como puede observarse a partir de la figura 27, el efecto antitumoral de Erb-(huL10)2 se agotó con el anticuerpo anti-CD8, mientras que el agotamiento de CD4 o NK1.1 no afectó significativamente a la actividad antitumoral de Erb-(huL10)2, lo que sugiere que es probable que la actividad antitumoral de Erb-(huL10)2 sea dependiente de células T CD8+.

#### Ejemplo 10 Comportamiento de selección como diana de los complejos proteínicos *in vivo*

Similar a los procedimientos mostrados en el ejemplo 9.1, se examinó la distribución *in vivo* de Erb-(huL10)2 usando el modelo de ratón C57BL/6 B16-EGFR. Brevemente, se les inyectó por vía subcutánea a ratones C57 BL/6 hembra de 8 semanas  $7 \times 10^5$  células B16-EGFR-SIY. Después de 7 días, se midió que el volumen tumoral era de alrededor de  $45 \text{ mm}^3$ . Se inyectaron por vía intraperitoneal (i.p.) heterodímero de Erb-(huL10)2 marcado con Alexa Fluor 750 (AF750) o heterodímero de control Tmab-(huL10)2. 24 horas después de la inyección, se examinó la señal de inmunofluorescencia de AF750 *in vivo* con el sistema de obtención de imágenes *in vivo* del espectro IVIS (Perkin Elmer) o *in vitro* después de extirpar los tumores. Los resultados (tal como se muestra en la figura 30) demostraron que la concentración de Erb-(huL10)2 es mucho más alta que la de Tmab-(huL10)2 en tumores positivos para EGFR. Por tanto, los complejos proteínicos de la presente divulgación podían dirigirse eficazmente a los tejidos de direccionamiento (por ejemplo, tumores) *in vivo*.

Para examinar adicionalmente la importancia del direccionamiento tumoral para el efecto antitumoral de los complejos proteínicos, sometió a prueba el efecto antitumoral *in vivo* de Erb-(huL10)2 y Tmab-(huL10)2 usando el modelo de ratón C57BL/6 B16-EGFR. Los procedimientos fueron similares a los descritos en el ejemplo 9.1. Brevemente, se les inyectó por vía subcutánea a ratones C57 BL/6 hembra de 8 semanas  $7 \times 10^5$  células B16-EGFR-SIY. Después de 7 días, se midió que el volumen tumoral era de alrededor de  $45 \text{ mm}^3$ . Se inyectaron por vía intraperitoneal (i.p.) el heterodímero Erb-(huL10)2, Tmab-(huL10)2 o PBS (control negativo) a 4 mg/kg. La inyección se realizó dos veces por semana, y se inyectaron tres dosis en total. Se midió el tamaño tumoral dos veces por semana, se calculó el volumen de los tumores para obtener una curva de crecimiento tumoral, tal como se muestra en la figura 31. Los resultados demostraron que solo Erb-(huL10)2 inhibió eficazmente el crecimiento tumoral, lo que indica la importancia del direccionamiento tumoral para su efecto terapéutico *in vivo*.

#### **Lista de secuencias**

<110> Dingfu Biotarget Co., Ltd.

<120> HETERODÍMERO PROTEÍNICO Y USO DEL MISMO

<130> 63581P EP-WO

<160> 79

<170> PatentIn versión 3.5

<210> 1

<211> 418

<212> PRT

<213> *Mus sp.*

<400> 1

ES 2 752 248 T3

Met Ala Arg Leu Cys Ala Phe Leu Met Ile Leu Val Met Met Ser Tyr  
 1 5 10 15

Tyr Trp Ser Ala Cys Ser Leu Gly Cys Asp Leu Pro His Thr Tyr Asn  
 20 25 30

Leu Gly Asn Lys Arg Ala Leu Thr Val Leu Glu Glu Met Arg Arg Leu  
 35 40 45

Pro Pro Leu Ser Cys Leu Lys Asp Arg Lys Asp Phe Gly Phe Pro Leu  
 50 55 60

Glu Lys Val Asp Asn Gln Gln Ile Gln Lys Ala Gln Ala Ile Leu Val  
 65 70 75 80

Leu Arg Asp Leu Thr Gln Gln Ile Leu Asn Leu Phe Thr Ser Lys Asp  
 85 90 95

Leu Ser Ala Thr Trp Asn Ala Thr Leu Leu Asp Ser Phe Cys Asn Asp  
 100 105 110

Leu His Gln Gln Leu Asn Asp Leu Lys Ala Cys Val Met Gln Glu Pro  
 115 120 125

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

Arg Ile Thr Val Tyr Leu Arg Lys Lys Lys His Ser Leu Cys Ala Trp  
 145 150 155 160

Glu Val Ile Arg Ala Glu Val Trp Arg Ala Leu Ser Ser Ser Thr Asn  
 165 170 175

ES 2 752 248 T3

Leu Leu Ala Arg Leu Ser Glu Glu Lys Glu Gly Ser Gly Gly Gly Asp  
 180 185 190

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

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile  
 210 215 220

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu  
 225 230 235 240

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His  
 245 250 255

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg  
 260 265 270

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys  
 275 280 285

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu  
 290 295 300

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys  
 305 310 315 320

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu  
 325 330 335

Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp  
 340 345 350

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val  
 355 360 365

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp  
 370 375 380

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His  
 385 390 395 400

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro  
 405 410 415

Gly Lys

<210> 2

<211> 1254

5 <212> ADN

<213> *Mus sp.*

<400> 2

ES 2 752 248 T3

atggctaggc tctgtgcttt cctcatgatc ctggtaatga tgagctacta ctggtcagcc 60  
 tgttctctag gatgtgacct gcctcacact tataacctcg ggaacaagag ggccttgaca 120  
 gtcctggaag aaatgagaag actccccct ctttctgcc tgaaggacag gaaggatfff 180  
 ggattcccct tggagaaggt ggataaccaa cagatccaga aggctcaagc catccttgtg 240  
 ctaagagatc ttaccagca gattttgaac ctcttcacat caaaagactt gtctgctact 300  
 tggaatgcaa ctctactaga ctcttctgc aatgacctcc atcagcagct caatgacctc 360  
 aaagcctgtg tgatgcagga acctcctctg acccaggaag actccctgct ggctgtgagg 420  
 acatacttcc acaggatcac tgtgtacctg agaaagaaga aacacagcct ctgtgcctgg 480  
 gaggtgatca gacgagaagt ctggagagcc ctctcttct caaccaactt gctggcaaga 540  
 ctgagtgagg agaaggagg atccggtgga ggtgacaaga cccacacctg cccccctgc 600  
 cccgcccccg agctgctggg cggccccagc gtgttctgt tccccccaa gcccaaggac 660  
 accctgatga tcagccgcac ccccgaggtg acctgcgtgg tgggtggacgt gagccacgag 720  
 gaccccgagg tgaagttcaa ctggtacctg gacggcgtgg aggtgcacaa cgccaagacc 780  
 aagccccgag aggagcagta caacagcacc taccgctgg tgagcgtgct gaccgtgctg 840  
 caccaggact ggctgaacgg caaggagtac aagtcaagg tgagcaacaa ggccctgccc 900  
 gccccatcg agaagaccat cagcaaggcc aaggccagc cccgagagcc ccaggtgtgc 960  
 accctgcccc ccagccgca cgagctgacc aagaaccagg tgagcctgag ctgcgccgtg 1020  
 aagggcttct accccagcga catgcccgtg gagtgggaga gcaacggcca gcccgagaac 1080  
 aactacaaga ccaccccc cgtgctggac agcgacggca gcttcttct ggtgagcaag 1140  
 ctgaccgtgg acaagagccg ctggcagcag ggcaacgtgt tcagctgcag cgtgatgcac 1200  
 gaggcctgc acaaccacta caccagaag agcctgagcc tgagccccg caag 1254

<210> 3  
 <211> 420  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 3

Met Ala Leu Thr Phe Ala Leu Leu Val Ala Leu Leu Val Leu Ser Cys  
 1 5 10 15

Lys Ser Ser Cys Ser Val Gly Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu  
 20 25 30

10

ES 2 752 248 T3

Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser  
 35 40 45

Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu  
 50 55 60

Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His  
 65 70 75 80

Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser  
 85 90 95

Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr  
 100 105 110

Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val  
 115 120 125

Thr Glu Thr Pro Leu Met Lys Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys  
 130 135 140

Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro  
 145 150 155 160

Cys Ala Trp Glu Val Val Arg Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu  
 165 170 175

Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser Leu Arg Ser Lys Glu Gly Ser Gly Gly  
 180 185 190

Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu  
 195 200 205

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu  
 210 215 220

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser  
 225 230 235 240

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu  
 245 250 255

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr  
 260 265 270

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn



ES 2 752 248 T3

caagaaagtt taagaagtaa ggaaggatcc ggtggaggtg acaagacca cacctgcccc 600  
 ccctgccccg cccccgagct gctgggcggc cccagcgtgt tcctgttccc cccaagccc 660  
 aaggacacc tgatgatcag ccgcaccccc gaggtgacct gcgtgggtgt ggacgtgagc 720  
 cacgaggacc ccgaggtgaa gttcaactgg tacgtggacg gcgtggaggt gcacaacgcc 780  
 aagaccaagc cccgcgagga gcagtacaac agcacctacc gcgtgggtgag cgtgctgacc 840  
 gtgctgcacc aggactggct gaacggcaag gagtacaagt gcaaggtgag caacaaggcc 900  
 ctgcccggcc ccatcgagaa gaccatcagc aaggccaagg gccagccccg cgagccccag 960  
 gtgtgcaccc tgccccccag ccgcgacgag ctgaccaaga accaggtgag cctgagctgc 1020  
 gccgtgaagg gcttctaccc cagcgacatc gccgtggagt gggagagcaa cggccagccc 1080  
 gagaacaact acaagaccac cccccccgtg ctggacagcg acggcagctt cttcctggtg 1140  
 agcaagctga ccgtggacaa gagccgctgg cagcagggca acgtgttcag ctgcagcgtg 1200  
 atgcacgagg ccctgcacaa ccactacacc cagaagagcc tgagcctgag ccccgcaag 1260

<210> 5  
 <211> 414  
 <212> PRT  
 <213> *Mus sp.*

5

<400> 5

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

10

ES 2 752 248 T3

Trp Glu Met Ser Ser Thr Ala Leu His Leu Lys Ser Tyr Tyr Trp Arg  
 130 135 140

Val Gln Arg Tyr Leu Lys Leu Met Lys Tyr Asn Ser Tyr Ala Trp Met  
 145 150 155 160

Val Val Arg Ala Glu Ile Phe Arg Asn Phe Leu Ile Ile Arg Arg Leu  
 165 170 175

Thr Arg Asn Phe Gln Asn Gly Ser Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr  
 180 185 190

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe  
 195 200 205

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro  
 210 215 220

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val  
 225 230 235 240

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr  
 245 250 255

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val  
 260 265 270

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys  
 275 280 285

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser  
 290 295 300

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro  
 305 310 315 320

Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val  
 325 330 335

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly  
 340 345 350

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp  
 355 360 365

Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp  
 370 375 380

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His  
 385 390 395 400

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 405 410

- 5 <210> 6
- <211> 1242
- <212> ADN
- <213> *Mus sp.*

ES 2 752 248 T3

<400> 6

atgaacaaca ggtggattct ccacgctgcg ttctgtgtgt gcttctccac cacagccctc	60
tccatcaact ataagcagct ccagctccaa gaaaggacga acattcggaa atgtcaggag	120
ctcctggagc agctgaatgg aaagatcaac ctcacctaca gggcggactt caagatccct	180
atggagatga cggagaagat gcagaagagt tacaactgcct ttgccatcca agagatgctc	240
cagaatgtct ttcttgtctt cagaaacaat ttctccagca ctgggtggaa tgagactatt	300
gttgtacgtc tcctggatga actccaccag cagacagtgt ttctgaagac agtactagag	360
gaaaagcaag aggaaagatt gacgtgggag atgtcctcaa ctgctctcca cttgaagagc	420
tattactgga gggtgcaaag gtatcttaaa ctcatgaagt acaacagcta cgcctggatg	480
gtggtccgag cagagatctt caggaacttt ctcacattc gaagacttac cagaaacttc	540
caaaacggat ccggtggagg tgacaagacc cacacctgcc cccoctgccc cgcccccgag	600
ctgctgggcg gccccagcgt gttcctgttc ccccccaagc ccaaggacac cctgatgatc	660
agccgcaccc ccgaggtgac ctgctgtgtg gtggacgtga gccacgagga ccccgaggtg	720
aagttcaact ggtacgtgga cggcgtggag gtgcacaacg ccaagaccaa gccccgcgag	780
gagcagtaca acagcaccta ccgctgtgtg agcgtgctga ccgtgctgca ccaggactgg	840
ctgaacggca aggagtacaa gtgcaagggt agcaacaagg ccctgcccgc ccccatcgag	900
aagaccatca gcaaggccaa gggccagccc cgcgagcccc aggtgtgcac cctgcccccc	960
agccgcgacg agctgaccaa gaaccaggtg agcctgagct gcgccgtgaa gggcttctac	1020
cccagcgaca tcgcccgtga gtgggagagc aacggccagc ccgagaacaa ctacaagacc	1080
accccccccg tgctggacag cgacggcagc ttcttctctg tgagcaagct gaccgtggac	1140
aagagccgct ggcagcaggg caacgtgttc agctgcagcg tgatgcacga ggcctctcac	1200
aaccactaca ccagaagag cctgagcctg agccccggca ag	1242

5

<210> 7

<211> 432

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

10

<400> 7

ES 2 752 248 T3

Met Ala Ala Ala Trp Thr Val Val Leu Val Thr Leu Val Leu Gly Leu  
1 5 10 15

Ala Val Ala Gly Pro Val Pro Thr Ser Lys Pro Thr Thr Thr Gly Lys  
20 25 30

Gly Cys His Ile Gly Arg Phe Lys Ser Leu Ser Pro Gln Glu Leu Ala  
35 40 45

Ser Phe Lys Lys Ala Arg Asp Ala Leu Glu Glu Ser Leu Lys Leu Lys  
50 55 60

Asn Trp Ser Cys Ser Ser Pro Val Phe Pro Gly Asn Trp Asp Leu Arg  
65 70 75 80

Leu Leu Gln Val Arg Glu Arg Pro Val Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala  
85 90 95

Leu Thr Leu Lys Val Leu Glu Ala Ala Ala Gly Pro Ala Leu Glu Asp  
100 105 110

Val Leu Asp Gln Pro Leu His Thr Leu His His Ile Leu Ser Gln Leu  
115 120 125

Gln Ala Cys Ile Gln Pro Gln Pro Thr Ala Gly Pro Arg Pro Arg Gly  
130 135 140

Arg Leu His His Trp Leu His Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys Glu  
145 150 155 160

Ser Ala Gly Cys Leu Glu Ala Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg Leu  
165 170 175

Leu Thr Arg Asp Leu Lys Tyr Val Ala Asp Gly Asn Leu Cys Leu Arg  
180 185 190

Thr Ser Thr His Pro Glu Ser Thr Gly Ser Gly Gly Gly Asp Lys Thr  
195 200 205

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser  
210 215 220

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg  
225 230 235 240

ES 2 752 248 T3

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro  
 245 250 255

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala  
 260 265 270

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val  
 275 280 285

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr  
 290 295 300

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr  
 305 310 315 320

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

Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys  
 340 345 350

Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser  
 355 360 365

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp  
 370 375 380

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser  
 385 390 395 400

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala  
 405 410 415

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 420 425 430

<210> 8  
 <211> 1296  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 8

5 atggctgcag cttggaccgt ggtgctggtg actttggtgc taggcttggc cgtggcaggc 60  
 cctgtcccca cttccaagcc caccacaact gggaagggct gccacattgg caggttcaaa 120  
 tctctgtcac cacaggagct agcgagcttc aagaaggcca gggacgcctt ggaagagtca 180  
 ctcaagctga aaaactggag ttgcagctct cctgtcttcc ccgggaattg ggacctgagg 240  
 10 cttctccagg tgagggagcg ccctgtggcc ttggaggctg agctggcctt gacgctgaag 300

ES 2 752 248 T3

gtcctggagg ccgctgctgg cccagccctg gaggacgtcc tagaccagcc ccttcacacc 360  
 ctgcaccaca tcctctccca gctccaggcc tgtatccagc ctcagcccac agcagggccc 420  
 aggccccggg gccgcctcca ccaactggctg caccggctcc aggaggcccc caaaaaggag 480  
 tccgctggct gcctggaggc atctgtcacc ttcaacctct tccgcctcct cacgcgagac 540  
 ctcaaatatg tggccgatgg gaacctgtgt ctgagaacgt caaccacccc tgagtccacc 600  
 ggatccgggtg gaggtgacaa gaccacacacc tgccccccct gccccgcccc cgagctgctg 660  
 ggcggcccca gcgtgttcct gttccccccc aagcccaagg acaccctgat gatcagccgc 720  
 acccccgagg tgacctgcgt ggtggtggac gtgagccacg aggaccccga ggtgaagtcc 780  
 aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcac aacgccaaga ccaagccccg cgaggagcag 840  
 tacaacagca cctaccgcgt ggtgagcgtg ctgaccgtgc tgcaccagga ctggctgaac 900  
 ggcaaggagt acaagtgcaa ggtgagcaac aaggccctgc ccgcccccat cgagaagacc 960  
 atcagcaagg ccaagggcca gccccgcgag ccccagggtg gcaccctgcc ccccagccgc 1020  
 gacgagctga ccaagaacca ggtgagcctg agctgcgccg tgaagggtt ctaccccagc 1080  
 gacatcgccg tggagtggga gagcaacggc cagcccgaga acaactacaa gaccaccccc 1140  
 cccgtgctgg acagcgacgg cagcttcttc ctggtgagca agctgaccgt ggacaagagc 1200  
 cgctggcagc agggcaacgt gttcagctgc agcgtgatgc acgaggccct gcacaaccac 1260  
 tacaccaga agagcctgag cctgagcccc ggcaag 1296

<210> 9  
 <211> 419  
 5 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 9

Met Thr Asn Lys Cys Leu Leu Gln Ile Ala Leu Leu Leu Cys Phe Ser  
 1 5 10 15

Thr Thr Ala Leu Ser Met Ser Tyr Asn Leu Leu Gly Phe Leu Gln Arg  
 20 25 30

Ser Ser Asn Phe Gln Cys Gln Lys Leu Leu Trp Gln Leu Asn Gly Arg  
 35 40 45

Leu Glu Tyr Cys Leu Lys Asp Arg Met Asn Phe Asp Ile Pro Glu Glu  
 50 55 60

10 Ile Lys Gln Leu Gln Gln Phe Gln Lys Glu Asp Ala Ala Leu Thr Ile  
 65 70 75 80

ES 2 752 248 T3

Tyr Glu Met Leu Gln Asn Ile Phe Ala Ile Phe Arg Gln Asp Ser Ser  
 85 90 95  
 Ser Thr Gly Trp Asn Glu Thr Ile Val Glu Asn Leu Leu Ala Asn Val  
 100 105 110  
 Tyr His Gln Ile Asn His Leu Lys Thr Val Leu Glu Glu Lys Leu Glu  
 115 120 125  
 Lys Glu Asp Phe Thr Arg Gly Lys Leu Met Ser Ser Leu His Leu Lys  
 130 135 140  
 Arg Tyr Tyr Gly Arg Ile Leu His Tyr Leu Lys Ala Lys Glu Tyr Ser  
 145 150 155 160  
 His Cys Ala Trp Thr Ile Val Arg Val Glu Ile Leu Arg Asn Phe Tyr  
 165 170 175  
 Phe Ile Asn Arg Leu Thr Gly Tyr Leu Arg Asn Gly Ser Gly Gly Gly  
 180 185 190  
 Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly  
 195 200 205  
 Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met  
 210 215 220  
 Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His  
 225 230 235 240  
 Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val  
 245 250 255  
 His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr  
 260 265 270  
 Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly  
 275 280 285  
 Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile  
 290 295 300  
 Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val  
 305 310 315 320  
 Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser  
 325 330 335

ES 2 752 248 T3

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

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro  
 355 360 365

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val  
 370 375 380

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met  
 385 390 395 400

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser  
 405 410 415

Pro Gly Lys

<210> 10  
 <211> 1178  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 10

5

ttggattcct acaaagaagc agcaattttc agtgtcagaa gtcctctgtg caattgaatg 60  
 ggaggttga atactgcctc aaggacagga tgaactttga catccctgag gagattaagc 120  
 agctgcagca gttccagaag gaggacgccg cattgacat ctatgagatg ctccagaaca 180  
 tctttgctat tttcagacaa gattcatcta gcaactggctg gaatgagact attggtgaga 240  
 acctcctggc taatgtctat catcagataa accatctgaa gacagtctctg gaagaaaaac 300  
 tggagaaaga agatttcacc aggggaaaac tcatgagcag tctgcacctg aaaagatatt 360  
 atgggaggat tctgcattac ctgaaggcca aggagtacag tcaactgtgcc tggaccatag 420  
 tcagagtgga aatcctaagc aacttttact tcattaacag acttacaggt tacctccgaa 480  
 acggatccgg tggaggtgac aagaccaca cctgcccccc ctgccccgcc cccgagctgc 540  
 tgggcggccc cagcgtgttc ctgttcccc ccaagcccaa ggacaccctg atgatcagcc 600  
 gcacccccga ggtgacctgc gtggtggtgg acgtgagcca cgaggacccc gaggtgaagt 660  
 tcaactggta cgtggacggc gtggaggtgc acaacgcaa gaccaagccc cgcgaggagc 720  
 agtacaacag cacctaccgc gtggtgagcg tgctgaccgt gctgcaccag gactggctga 780  
 acggcaagga gtacaagtgc aaggtgagca acaaggccct gccgcccc atcgagaaga 840  
 ccatcagcaa ggccaagggc cagccccgag agccccaggt gtgcaccctg cccccagcc 900  
 10 gcgacgagct gaccaagaac caggtgagcc tgagctgagc cgtgaagggc ttctacccca 960  
 gcgacatcgc cgtggagtgg gagagcaacg gccagcccga gaacaactac aagaccacc 1020  
 cccccgtgct ggacagcgac ggcagcttct tcttgggtgag caagctgacc gtggacaaga 1080  
 gccgctggca gcagggcaac gtgttcagct gcagcgtgat gcacgaggcc ctgcacaacc 1140  
 actacacca gaagagcctg agcctgagcc ccggcaag 1178

ES 2 752 248 T3

<210> 11  
 <211> 214  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

5

<220>  
 <223> Sintética

<400> 11

10

```

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

Glu Arg Val Ser Phe Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr Asn
      20           25           30

Ile His Trp Tyr Gln Gln Arg Thr Asn Gly Ser Pro Arg Leu Leu Ile
      35           40           45

Lys Tyr Ala Ser Glu Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
      50           55           60

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

Glu Asp Ile Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Asn Asn Trp Pro Thr
      85           90           95

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

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

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

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

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

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

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

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210
    
```

15

<210> 12  
 <211> 642  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

20

<220>  
 <223> Sintética

ES 2 752 248 T3

<400> 12

```

gacatcctgc tgaccagag ccccgatc ctgagcgtga gccccggcga gcgcgtgagc      60
ttcagctgcc gcgccagcca gagcatcggc accaacatcc actggtacca gcagcgcacc      120
aacggcagcc cccgcctgct gatcaagtac gccagcgaga gcatcagcgg catccccagc      180
cgcttcagcg gcagcggcag cggcaccgac ttcaccctga gcatcaacag cgtggagagc      240
gaggacatcg ccgactacta ctgccagcag aacaacaact ggcccaccac cttcggcgcc      300
ggcaccaagc tggagctgaa gcgcaccgtg gccgccccca gcgtgttcat cttccccccc      360
agcgacgagc agctgaagag cggcaccgcc agcgtggtgt gcctgctgaa caacttctac      420
ccccgcgagg ccaaggtgca gtggaaggtg gacaacgccc tgcagagcgg caacagccag      480
gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctgagcag caccctgacc      540
ctgagcaagg ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc      600
ctgagcagcc ccgtgaccaa gagcttcaac cgcgcgaggt gc                          642

```

5

<210> 13

<211> 449

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

10

<220>

<223> Sintética

<400> 13

15

```

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

```

```

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

```

```

Gly Val His Trp Val Arg Gln Ser Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu

```



ES 2 752 248 T3

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Lys

<210> 14  
 <211> 1347  
 5 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Sintética

10 <400> 14

caggtgcagc tgaagcagag cggccccggc ctggtgcagc ccagccagag cctgagcatc 60  
 acctgcaccg tgagcggcct cagcctgacc aactacggcg tgcactgggt gcgccagagc 120  
 cccggcaagg gcctggagtg gctgggcgtg atctggagcg gcggcaacac cgactacaac 180  
 acccccttca ccagccgcct gagcatcaac aaggacaaca gcaagagcca ggtgttcttc 240  
 aagatgaaca gcctgcagag caacgacacc gccatctact actgcgcccg cgcctgacc 300

ES 2 752 248 T3

tactacgact acgagttcgc ctactggggc cagggcacc tggtgaccgt gagcgccgcc 360  
 agcaccaagg gccccagcgt gttccccctg gccccagca gcaagagcac cagcggcggc 420  
 accgccgccc tgggctgcct ggtgaaggac tacttccccg agcccgtgac cgtgagctgg 480  
 aacagcggcg ccctgaccag cggcgtgcac accttccccg ccgtgctgca gagcagcggc 540  
 ctgtacagcc tgagcagcgt ggtgaccgtg cccagcagca gcctgggcac ccagacctac 600  
 atctgcaacg tgaaccacaa gccagcaac accaagggtg acaagcgcgt ggagcccaag 660  
 agctgcgaca agaccacac ctgccccccc tgccccgcc ccgagctgct gggcggcccc 720  
 agcgtgttcc tgttcccccc caagcccaag gacaccctga tgatcagccg ccccccgag 780  
 gtgacctgcg tgggtggtgga cgtgagccac gaggaccccg aggtgaagt caactggtac 840  
 gtggacggcg tggaggtgca caacgccaag accaagcccc gcgaggagca gtacaacagc 900  
 acctaccgcg tggtgagcgt gctgaccgtg ctgaccagg actggctgaa cggcaaggag 960  
 tacaagtgca aggtgagcaa caaggccctg cccgccccca tcgagaagac catcagcaag 1020  
 gccaaagggc agccccgcga gccccaggtg tacaccctgc ccccctgccg cgacgagctg 1080  
 accaagaacc aggtgagcct gtggtgcctg gtgaagggt tctaccccag cgacatcgcc 1140  
 gtggagtggg agagcaacgg ccagcccag aacaactaca agaccacccc ccccgctgctg 1200  
 gacagcgacg gcagcttctt cctgtacagc aagctgaccg tggacaagag ccgctggcag 1260  
 cagggcaacg tgttcagctg cagcgtgatg cacgaggccc tgcacaacca ctaccccag 1320  
 aagagcctga gcctgagccc cggcaag 1347

<210> 15  
 <211> 214  
 5 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Sintética

10 <400> 15

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

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

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

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

ES 2 752 248 T3

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 210

<210> 16  
 <211> 642  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Sintética

<400> 16

gacatccaaa tgacacagtc accctcaagc ctgagcgcct ccgtgggcga cagggtgacc 60  
 attacctgta gacgctcaca ggacgtgaac actgccgttg catggtatca acagaagcct 120  
 ggtaaagcac ccaaactgct catttatagc gcctcctttc tgtactctgg ggtgccttcc 180  
 cggttttctg gctcccggag cggcaccgac tttacactga ctatctcttc cctccagccc 240  
 gaagattttg caacatacta ctgtcagcag cactatacta ctctccaac attcggccag 300  
 gggacaaaag tggagataaa gcgcaccgtg gccgccccca gcgtgttcat cttccccccc 360  
 agcgcagcagc agctgaagag cggcaccgcc agcgtggtgt gcctgctgaa caacttctac 420  
 ccccgcgagg ccaaggtgca gtggaaggtg gacaacgccc tgcagagcgg caacagccag 480  
 gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctgagcag caccctgacc 540  
 ctgagcaagg ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc 600  
 ctgagcagcc ccgtgaccaa gagcttcaac cgcggcgagt gc 642

ES 2 752 248 T3

<210> 17  
 <211> 450  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

5

<220>  
 <223> Sintética

<400> 17

10

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr  
                   20                    25                    30

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

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

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

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

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

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val  
                   115                    120                    125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala  
                   130                    135                    140

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

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

ES 2 752 248 T3

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro  
 180 185 190  
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys  
 195 200 205  
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp  
 210 215 220  
 Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly  
 225 230 235 240  
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile  
 245 250 255  
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu  
 260 265 270  
 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His  
 275 280 285  
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg  
 290 295 300  
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys  
 305 310 315 320  
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu  
 325 330 335  
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr  
 340 345 350  
 Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu  
 355 360 365  
 Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp  
 370 375 380  
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val  
 385 390 395 400  
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp  
 405 410 415  
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His  
 420 425 430  
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro  
 435 440 445  
 Gly Lys  
 450

- 5 <210> 18
- <211> 1350
- <212> ADN
- <213> Secuencia artificial

ES 2 752 248 T3

<220>

<223> Sintética

5 <400> 18

gaagtccagc	tggtogaatc	cggtggcggg	ctggtccagc	caggaggatc	tctgagactg	60
tcctgcgccg	caagcggcctt	caacatcaag	gatacataca	tccactgggt	gaggcaggca	120
cccggcaaag	gcctggagtg	ggtggccccg	atctacccaa	ccaacggta	taccaggtat	180
gccgactcag	tcaaaggcag	gtttactatt	tctgctgaca	catcaaagaa	tacagcctac	240
ctgcaaatga	atagcctgag	ggctgaagat	accgctgtgt	actactgctc	cagatgggga	300
ggtgatggct	tttatgccat	ggattattgg	ggacaaggca	cactcgtgac	cgtttcttct	360
gccagcacca	agggccccag	cgtgttcccc	ctggccccca	gcagcaagag	caccagcggc	420
ggcaccgccg	ccctgggctg	cctgggtgaag	gactacttcc	ccgagcccgt	gaccgtgagc	480
tggaacagcg	gcgccctgac	cagcggcgtg	cacaccttcc	ccgccgtgct	gcagagcagc	540
ggcctgtaca	gcctgagcag	cgtggtgacc	gtgcccagca	gcagcctggg	caccagacc	600
tacatctgca	acgtgaacca	caagcccagc	aacaccaagg	tggacaagcg	cgtggagccc	660
aagagctgcg	acaagaccca	cacctgcccc	ccctgccccg	cccccgagct	gctgggcggc	720
cccagcgtgt	tcctgttccc	cccgaagccc	aaggacaccc	tgatgatcag	ccgcaccccc	780
gaggtgacct	gcgtggtggt	ggacgtgagc	cacgaggacc	ccgaggtgaa	gttcaactgg	840
tacgtggacg	gcgtggaggt	gcacaacgcc	aagaccaagc	cccgcgagga	gcagtacaac	900
agcacctacc	gcgtggtgag	cgtgctgacc	gtgctgcacc	aggactggct	gaacggcaag	960
gagtacaagt	gcaaggtgag	caacaaggcc	ctgcccgcc	ccatcgagaa	gaccatcagc	1020
aaggccaagg	gccagccccg	cgagccccag	gtgtacaccc	tgccccctg	ccgcgacgag	1080
ctgaccaaga	accaggtgag	cctgtggtgc	ctggtgaagg	gcttctaccc	cagcgacatc	1140
gccgtggagt	gggagagcaa	cgccagccc	gagaacaact	acaagaccac	cccccccgctg	1200
ctggacagcg	acggcagcct	cttcctgtac	agcaagctga	ccgtggacaa	gagccgctgg	1260
cagcagggca	acgtgttcag	ctgcagcgtg	atgcacgagg	ccctgcacaa	ccactacacc	1320
cagaagagcc	tgagcctgag	ccccggcaag				1350

<210> 19

10 <211> 630

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Sintética

<400> 19

ES 2 752 248 T3

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

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

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

Gly Val Ile Trp Ser Gly Gly Asn Thr Asp Tyr Asn Thr Pro Phe Thr  
 50 55 60

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

Lys Met Asn Ser Leu Gln Ser Asn Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala  
 85 90 95

Arg Ala Leu Thr Tyr Tyr Asp Tyr Glu Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly  
 100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ala Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe  
 115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu  
 130 135 140

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

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

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

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

ES 2 752 248 T3

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

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro  
 225 230 235 240

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Lys Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly  
 450 455 460

ES 2 752 248 T3

Ser Gly Gly Gly Gly Ile Asn Tyr Lys Gln Leu Gln Leu Gln Glu Arg  
465 470 475 480

Thr Asn Ile Arg Lys Cys Gln Glu Leu Leu Glu Gln Leu Asn Gly Lys  
485 490 495

Ile Asn Leu Thr Tyr Arg Ala Asp Phe Lys Ile Pro Met Glu Met Thr  
500 505 510

Glu Lys Met Gln Lys Ser Tyr Thr Ala Phe Ala Ile Gln Glu Met Leu  
515 520 525

Gln Asn Val Phe Leu Val Phe Arg Asn Asn Phe Ser Ser Thr Gly Trp  
530 535 540

Asn Glu Thr Ile Val Val Arg Leu Leu Asp Glu Leu His Gln Gln Thr  
545 550 555 560

Val Phe Leu Lys Thr Val Leu Glu Glu Lys Gln Glu Glu Arg Leu Thr  
565 570 575

Trp Glu Met Ser Ser Thr Ala Leu His Leu Lys Ser Tyr Tyr Trp Arg  
580 585 590

Val Gln Arg Tyr Leu Lys Leu Met Lys Tyr Asn Ser Tyr Ala Trp Met  
595 600 605

Val Val Arg Ala Glu Ile Phe Arg Asn Phe Leu Ile Ile Arg Arg Leu  
610 615 620

Thr Arg Asn Phe Gln Asn  
625 630

<210> 20  
<211> 1890  
5 <212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Sintética

10 <400> 20

cagggtgcagc tgaagcagag cggccccggc ctggtgcagc ccagccagag cctgagcatc 60  
acctgcaccg tgagcggcct cagcctgacc aactacggcg tgcaactgggt gcgccagagc 120  
cccggcaagg gcctggagtg gctgggcgtg atctggagcg gcggcaacac cgactacaac 180  
acccccttca ccagccgcct gaggcatcaac aaggacaaca gcaagagcca ggtgttcttc 240

ES 2 752 248 T3

aagatgaaca gcctgcagag caacgacacc gccatctact actgcgcccg cgccctgacc 300  
 tactacgact acgagttcgc ctactggggc cagggcaccg tggtagccgt gagcgccgcc 360  
 agcaccaagg gccccagcgt gttccccctg gccccagca gcaagagcac cagcggcggc 420  
 accgcccgcc tgggctgcct ggtgaaggac tacttccccg agcccgtgac cgtgagctgg 480  
 aacagcggcg ccctgaccag cggcgtgcac accttccccg ccgtgctgca gagcagcggc 540  
 ctgtacagcc tgagcagcgt ggtgaccgtg cccagcagca gcctgggcac ccagacctac 600  
 atctgcaacg tgaaccacaa gccagcaac accaaggtgg acaagcgcgt ggagcccaag 660  
 agctgcgata agacacacac ctgccctcca tgccccgcac ctgaactcct gggcgggctt 720  
 tccgttttcc tgtttctcct caagcccaag gatacactga tgattagccg cacccccgaa 780  
 gtcacttgcg tggtggtgga tgtgagccat gaagatccag aagttaagtt taactggtat 840  
 gtggacgggg tcgaggtgca caatgctaaa acaaagccca gggaggagca atataactcc 900  
 acatacagag tgggtgccgt tctgacagtc ctgcaccagg actggctgaa cgggaaggaa 960  
 tacaagtgca agtgttctaa taaggcactg ccagccccca tagagaagac aatctctaaa 1020  
 gctaaaggcc aaccacgcga gcctcaggtc tacacactgc caccatccag ggacgaactg 1080  
 accaagaatc aggtgagcct gacttgtctc gtcaaaggat tctaccaag cgacatcgcc 1140  
 gtggagtggg aatccaacgg ccaaccagag aacaactaca agaccacccc accagtcctg 1200  
 gactctgatg ggagcttttt cctgtattcc aagctgacag tggacaagtc tcggtggcaa 1260  
 cagggcaacg tgttcagctg ctccgtgatg catgaagccc tgcataacca ctatacccag 1320  
 aaaagcctca gcctgtcccc cgggaaaagc ggcggcggcg gcagcggggg cggcggcagc 1380  
 ggagagggcg gcagcggagg aggcggcatc aactataagc agctccagct ccaagaaagg 1440  
 acgaacattc ggaaatgtca ggagctcctg gagcagctga atggaaagat caacctcacc 1500  
 tacagggcgg acttcaagat ccctatggag atgacggaga agatgcagaa gagttacact 1560  
 gcctttgcca tccaagagat gctccagaat gtctttcttg tcttcagaaa caatttctcc 1620  
 agcactgggt ggaatgagac tattgttgta cgtctcctgg atgaactcca ccagcagaca 1680  
 gtgtttctga agacagtact agaggaaaag caagagaaa gattgacgtg ggagatgtcc 1740  
 tcaactgctc tccacttgaa gagctattac tggaggggtg aaaggtatct taaactcatg 1800  
 aagtacaaca gctacgcctg gatgggtgtc cgagcagaga tcttcaggaa ctttctcatc 1860  
 attcgaagac ttaccagaaa cttccaaaac 1890

<210> 21  
 <211> 654  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

5

<220>  
 <223> Sintética

10

<400> 21

ES 2 752 248 T3

Met Ala Ala Ala Trp Thr Val Val Leu Val Thr Leu Val Leu Gly Leu  
1 5 10 15

Ala Val Ala Gly Pro Val Pro Thr Ser Lys Pro Thr Thr Thr Gly Lys  
20 25 30

Gly Cys His Ile Gly Arg Phe Lys Ser Leu Ser Pro Gln Glu Leu Ala  
35 40 45

Ser Phe Lys Lys Ala Arg Asp Ala Leu Glu Glu Ser Leu Lys Leu Lys  
50 55 60

Asn Trp Ser Cys Ser Ser Pro Val Phe Pro Gly Asn Trp Asp Leu Arg  
65 70 75 80

Leu Leu Gln Val Arg Glu Arg Pro Val Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala  
85 90 95

Leu Thr Leu Lys Val Leu Glu Ala Ala Ala Gly Pro Ala Leu Glu Asp  
100 105 110

Val Leu Asp Gln Pro Leu His Thr Leu His His Ile Leu Ser Gln Leu  
115 120 125

Gln Ala Cys Ile Gln Pro Gln Pro Thr Ala Gly Pro Arg Pro Arg Gly  
130 135 140

Arg Leu His His Trp Leu His Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys Glu  
145 150 155 160

Ser Ala Gly Cys Leu Glu Ala Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg Leu  
165 170 175

Leu Thr Arg Asp Leu Lys Tyr Val Ala Asp Gly Asn Leu Cys Leu Arg  
180 185 190

Thr Ser Thr His Pro Glu Ser Thr Gly Ser Gly Gly Gly Gln Val Gln  
195 200 205

Leu Lys Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Gln Pro Ser Gln Ser Leu Ser  
210 215 220

Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Asn Tyr Gly Val His  
225 230 235 240

ES 2 752 248 T3

Trp Val Arg Gln Ser Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Val Ile  
 245 250 255

Trp Ser Gly Gly Asn Thr Asp Tyr Asn Thr Pro Phe Thr Ser Arg Leu  
 260 265 270

Ser Ile Asn Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Phe Lys Met Asn  
 275 280 285

Ser Leu Gln Ser Asn Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Arg Ala Leu  
 290 295 300

Thr Tyr Tyr Asp Tyr Glu Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val  
 305 310 315 320

Thr Val Ser Ala Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala  
 325 330 335

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu  
 340 345 350

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly  
 355 360 365

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser  
 370 375 380

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu  
 385 390 395 400

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr  
 405 410 415

Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr  
 420 425 430

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe  
 435 440 445

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro  
 450 455 460

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val  
 465 470 475 480

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr  
 485 490 495

ES 2 752 248 T3

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val  
500 505 510

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys  
515 520 525

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser  
530 535 540

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro  
545 550 555 560

Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val  
565 570 575

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly  
580 585 590

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp  
595 600 605

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp  
610 615 620

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His  
625 630 635 640

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
645 650

<210> 22  
<211> 1962  
5 <212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Sintética

10

<400> 22

atggctgcag	cttggaccgt	ggtgctggtg	actttggtgc	taggcttggc	cgtggcaggc	60
cctgtcccca	cttccaagcc	caccacaact	gggaagggct	gccacattgg	caggttcaaa	120
tctctgtcac	cacaggagct	agcgagcttc	aagaaggcca	gggacgcctt	ggaagagtca	180
ctcaagctga	aaaactggag	ttgcagctct	cctgtcttcc	ccgggaattg	ggacctgagg	240
cttctccagg	tgagggagcg	ccctgtggcc	ttggaggctg	agctggccct	gacgctgaag	300
gtcctggagg	ccgctgctgg	cccagccctg	gaggacgtcc	tagaccagcc	ccttcacacc	360

ES 2 752 248 T3

ctgcaccaca tcctctccca gctccaggcc tgtatccagc ctcagcccac agcagggccc 420  
 aggccccggg gccgcctcca ccaactggctg caccggctcc aggaggcccc caaaaaggag 480  
 tccgctggct gcctggaggc atctgtcacc ttcaacctct tccgcctcct cacgcgagac 540  
 ctcaaatatg tggccgatgg gaacctgtgt ctgagaacgt caaccaccc tgagtccacc 600  
 ggatccgggtg gaggtcaggt gcagctgaag cagagcggcc ccggcctggt gcagcccagc 660  
 cagagcctga gcatcacctg caccgtgagc ggcttcagcc tgaccaacta cggcgtgac 720  
 tgggtgcgcc agagccccgg caagggcctg gagtggctgg gcgtgatctg gagcggcggc 780  
 aacaccgact acaacacccc cttcaccagc cgcctgagca tcaacaagga caacagcaag 840  
 agccaggtgt tcttcaagat gaacagcctg cagagcaacg acaccgcat ctactactgc 900  
 gcccgcgccc tgacctacta cgactacgag ttcgcctact ggggcccagg caccctggtg 960  
 accgtgagcg ccgccagcac caagggcccc agcgtgttcc ccctggcccc cagcagcaag 1020  
 agcaccagcg gcggcaccgc cggcctgggc tgcctggtga aggactactt ccccagagccc 1080  
 gtgaccgtga gctggaacag cggcgcctcg accagcggcg tgcacacctt ccccgccgtg 1140  
 ctgcagagca gcggcctgta cagcctgagc agcgtggtga ccgtgcccag cagcagcctg 1200  
 ggcacccaga cctacatctg caacgtgaac cacaagccca gcaacaccaa ggtggacaag 1260  
 cgcgtggagc ccaagagctg cgataagaca cacacctgcc ctccatgcc cgcacctgaa 1320  
 ctctggggcg ggcttccgt tttcctgttt cctcccaagc ccaaggatac actgatgatt 1380  
 agccgcaccc ccgaagtac ttgctggtg gtgatgtga gccatgaaga tccagaagtt 1440  
 aagttaact ggtatgtgga cggggtcgag gtgcacaatg ctaaaacaaa gccagggag 1500  
 gagcaatata actccacata cagagtgtg tccgttctga cagtccctgca ccaggactgg 1560  
 ctgaacggga aggaatacaa gtgcaagggtg tctaataagg cactgccagc ccccatagag 1620  
 aagacaatct ctaaagctaa aggccaacca cgcgagcctc aggtctacac actgccacca 1680  
 tccagggacg aactgaccaa gaatcaggtg agcctgactt gtctcgtcaa aggattctac 1740  
 ccaagcgaca tcgccgtgga gtgggaatcc aacggccaac cagagaacaa ctacaagacc 1800  
 accccaccag tcctggactc tgatgggagc tttttcctgt attccaagct gacagtggac 1860  
 aagtctcggg ggcaacaggg caacgtgttc agctgctccg tgatgcatga agccctgcat 1920  
 aaccactata cccagaaaag cctcagcctg tccccggga aa 1962

<210> 23  
 <211> 635  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

5

<220>  
 <223> Sintética

10

<400> 23

ES 2 752 248 T3

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

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

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

Gly Val Ile Trp Ser Gly Gly Asn Thr Asp Tyr Asn Thr Pro Phe Thr  
50 55 60

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

Lys Met Asn Ser Leu Gln Ser Asn Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala  
85 90 95

Arg Ala Leu Thr Tyr Tyr Asp Tyr Glu Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly  
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ala Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe  
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu  
130 135 140

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

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

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

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

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

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro  
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser



ES 2 752 248 T3

Leu Glu Tyr Cys Leu Lys Asp Arg Met Asn Phe Asp Ile Pro Glu Glu  
500 505 510

Ile Lys Gln Leu Gln Gln Phe Gln Lys Glu Asp Ala Ala Leu Thr Ile  
515 520 525

Tyr Glu Met Leu Gln Asn Ile Phe Ala Ile Phe Arg Gln Asp Ser Ser  
530 535 540

Ser Thr Gly Trp Asn Glu Thr Ile Val Glu Asn Leu Leu Ala Asn Val  
545 550 555 560

Tyr His Gln Ile Asn His Leu Lys Thr Val Leu Glu Glu Lys Leu Glu  
565 570 575

Lys Glu Asp Phe Thr Arg Gly Lys Leu Met Ser Ser Leu His Leu Lys  
580 585 590

Arg Tyr Tyr Gly Arg Ile Leu His Tyr Leu Lys Ala Lys Glu Tyr Ser  
595 600 605

His Cys Ala Trp Thr Ile Val Arg Val Glu Ile Leu Arg Asn Phe Tyr  
610 615 620

Phe Ile Asn Arg Leu Thr Gly Tyr Leu Arg Asn  
625 630 635

<210> 24  
<211> 1905  
5 <212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Sintética

10 <400> 24

caggtgcagc tgaagcagag cggccccggc ctggtgcagc ccagccagag cctgagcatc 60  
acctgcaccg tgagcggcct cagcctgacc aactacggcg tgcactgggt gcgccagagc 120  
cccggcaagg gcctggagtg gctgggctgt atctggagcg gcggcaacac cgactacaac 180  
acccccctca ccagccgcct gagcatcaac aaggacaaca gcaagagcca ggtgttcttc 240  
aagatgaaca gcctgcagag caacgacacc gccatctact actgcgcccg cgccctgacc 300  
tactacgact acgagttcgc ctactggggc cagggcaccc tggtgaccgt gagcgcggcc 360  
agcaccaagg gccccagcgt gttccccctg gccccagca gcaagagcac cagcggcggc 420  
accgccgcc tgggctgcct ggtgaaggac tacttccccg agcccgtgac cgtgagctgg 480  
aacagcggcg ccctgaccag cggcgtgcac accttccccg ccgtgctgca gagcagcggc 540

ES 2 752 248 T3

ctgtacagcc tgagcagcgt ggtgaccgtg cccagcagca gcctgggcac ccagacctac 600  
atctgcaacg tgaaccacaa gccagcaac accaaggtgg acaagcgcgt ggagcccaag 660  
agctgcgata agacacacac ctgccctcca tgccccgcac ctgaactcct gggcgggcct 720  
tccgttttcc tgtttcctcc caagcccaag gatacactga tgattagccg caccctcgaa 780  
gtcacttgcg tggtggtgga tgtgagccat gaagatccag aagttaagtt taactggtat 840  
gtggacgggg tgcaggtgca caatgctaaa acaaagccca gggaggagca atataactcc 900  
acatacagag tgggtgccgt tctgacagtc ctgcaccagg actggctgaa cgggaaggaa 960  
tacaagtgca agtgtctaa taaggcactg ccagccccca tagagaagac aatctctaaa 1020  
gctaaaggcc aaccacgcga gcctcaggtc tacacactgc caccatccag ggacgaactg 1080  
accaagaatc aggtgagcct gacttgtctc gtcaaaggat tctaccaag cgacatcgcc 1140  
gtggagtggg aatccaacgg ccaaccagag aacaactaca agaccacccc accagtcctg 1200  
gactctgatg ggagcttttt cctgtattcc aagctgacag tggacaagtc tcggtggcaa 1260  
cagggcaacg tgttcagctg ctccgtgatg catgaagccc tgcataacca ctatacccag 1320  
aaaagcctca gcctgtcccc cgggaaaagc ggcggcggcg gcagcggggg cggcggcagc 1380  
ggaggaggcg gcagcggag aggcggcatg agctacaact tgcttgatt cctacaaaga 1440  
agcagcaatt ttcagtgca gaagctcctg tggcaattga atgggaggct tgaatactgc 1500  
ctcaaggaca ggatgaactt tgacatccct gaggagatta agcagctgca gcagttccag 1560  
aaggaggacg ccgcattgac catctatgag atgtccaga acatctttgc tattttcaga 1620  
caagattcat ctagcactgg ctggaatgag actattggtg agaacctcct ggctaagtgc 1680  
tatcatcaga taaaccatct gaagacagtc ctggaagaaa aactggagaa agaagatttc 1740  
accaggggaa aactcatgag cagtctgcac ctgaaaagat attatgggag gattctgcat 1800  
tacctgaagg ccaaggagta cagtcactgt gcctggacca tagtcagagt ggaaatccta 1860  
aggaactttt acttcattaa cagacttaca ggttacctcc gaaac 1905

<210> 25  
<211> 641  
5 <212> PRT  
<213> Secuencia artificial

<220>  
10 <223> Sintética

<400> 25

Met Thr Asn Lys Cys Leu Leu Gln Ile Ala Leu Leu Leu Cys Phe Ser  
1 5 10 15

Thr Thr Ala Leu Ser Met Ser Tyr Asn Leu Leu Gly Phe Leu Gln Arg  
20 25 30

ES 2 752 248 T3

Ser Ser Asn Phe Gln Cys Gln Lys Leu Leu Trp Gln Leu Asn Gly Arg  
 35 40 45

Leu Glu Tyr Cys Leu Lys Asp Arg Met Asn Phe Asp Ile Pro Glu Glu  
 50 55 60

Ile Lys Gln Leu Gln Gln Phe Gln Lys Glu Asp Ala Ala Leu Thr Ile  
 65 70 75 80

Tyr Glu Met Leu Gln Asn Ile Phe Ala Ile Phe Arg Gln Asp Ser Ser  
 85 90 95

Ser Thr Gly Trp Asn Glu Thr Ile Val Glu Asn Leu Leu Ala Asn Val  
 100 105 110

Tyr His Gln Ile Asn His Leu Lys Thr Val Leu Glu Glu Lys Leu Glu  
 115 120 125

Lys Glu Asp Phe Thr Arg Gly Lys Leu Met Ser Ser Leu His Leu Lys  
 130 135 140

Arg Tyr Tyr Gly Arg Ile Leu His Tyr Leu Lys Ala Lys Glu Tyr Ser  
 145 150 155 160

His Cys Ala Trp Thr Ile Val Arg Val Glu Ile Leu Arg Asn Phe Tyr  
 165 170 175

Phe Ile Asn Arg Leu Thr Gly Tyr Leu Arg Asn Gly Ser Gly Gly Gly  
 180 185 190

Gln Val Gln Leu Lys Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Gln Pro Ser Gln  
 195 200 205

Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Asn Tyr  
 210 215 220

Gly Val His Trp Val Arg Gln Ser Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu  
 225 230 235 240

Gly Val Ile Trp Ser Gly Gly Asn Thr Asp Tyr Asn Thr Pro Phe Thr  
 245 250 255

Ser Arg Leu Ser Ile Asn Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Phe  
 260 265 270

Lys Met Asn Ser Leu Gln Ser Asn Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala



ES 2 752 248 T3

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr  
530 535 540

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr  
545 550 555 560

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu  
565 570 575

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu  
580 585 590

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys  
595 600 605

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu  
610 615 620

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
625 630 635 640

Lys

<210> 26  
<211> 1923  
5 <212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
10 <223> Sintética

<400> 26

```

atgaccaaca agtgtctcct ccaaattgct ctctgttgt gcttctccac tacagctctt      60
tccatgagct acaacttgct tggattccta caaagaagca gcaattttca gtgtcagaag      120
ctcctgtggc aattgaatgg gaggcttgaa tactgcctca aggacaggat gaactttgac      180
atccctgagg agattaagca gctgcagcag ttccagaagg aggacgccgc attgaccatc      240
tatgagatgc tccagaacat ctttgctatt ttcagacaag attcatctag cactggctgg      300
aatgagacta ttgttgagaa cctcctggct aatgtctatc atcagataaa ccatctgaag      360
acagtcttgg aagaaaaact ggagaaagaa gatttcacca ggggaaaact catgagcagt      420
ctgcacctga aaagatatta tgggaggatt ctgcattacc tgaaggccaa ggagtacagt      480
cactgtgcct ggacatagt cagagtggaa atcctaagga acttttactt cattaacaga      540
cttacaggtt acctccgaaa cggatccggt ggaggtcagg tgcagctgaa gcagagcggc      600
cccggcctgg tgcagcccag ccagagcctg agcatcacct gcaccgtgag cggcttcagc      660
    
```

ES 2 752 248 T3

ctgaccaact acggcgtgca ctgggtgctc cagagccccg gcaagggcct ggagtggctg 720  
 ggcgtgatct ggagcggcgg caacaccgac tacaacaccc ccttcaccag ccgcctgagc 780  
 atcaacaagg acaacagcaa gagccaggtg ttcttcaaga tgaacagcct gcagagcaac 840  
 gacaccgcca tctactactg cgcccgcgcc ctgacctact acgactacga gttcgcctac 900  
 tggggccagg gcaccctggt gaccgtgagc gccgccagca ccaagggccc cagcgtgttc 960  
 cccttgcccc ccagcagcaa gagcaccagc ggcggcaccg ccgccctggg ctgcctggtg 1020  
 aaggactact tccccgagcc cgtgaccgtg agctggaaca gcggcgcctt gaccagcggc 1080  
 gtgcacacct tccccgccgt gctgcagagc agcggcctgt acagcctgag cagcgtggtg 1140  
 accgtgcccc gcagcagcct gggcaccagc acctacatct gcaacgtgaa ccacaagccc 1200  
 agcaacacca aggtggacia gcgcgtggag cccaagagct gcgataagac acacacctgc 1260  
 cctccatgcc ccgcacctga actcctgggc gggccttccg ttttctgtt tcctcccaag 1320  
 cccaaggata cactgatgat tagccgcacc cccgaagtca cttgcgtggt ggtggatgtg 1380  
 agccatgaag atccagaagt taagttaaac tggatgtgg acggggtcga ggtgcacaa 1440  
 gctaaaacaa agcccagga ggagcaatat aactccacat acagagtggg gtccgttctg 1500  
 acagtctgc accaggactg gctgaacggg aaggaataca agtgcaaggt gtctaataag 1560  
 gcactgccag ccccataga gaagacaatc tctaagcta aaggccaacc acgcgagcct 1620  
 caggtctaca cactgccacc atccaggagc gaactgacca agaatcaggt gagcctgact 1680  
 tgtctcgtca aaggattcta cccaagcagc atcgccgtgg agtggaatc caacggccaa 1740  
 ccagagaaca actacaagac caccaccca gtccctggact ctgatgggag ctttttctg 1800  
 tattccaagc tgacagtga caagtctcgg tggcaacagg gcaacgtgtt cagctgctcc 1860  
 gtgatgcatg aagccctgca taaccactat acccagaaaa gcctcagcct gtccccggg 1920  
 aaa 1923

5 <210> 27  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> Sintética

<400> 27  
 Gly Ser Gly Gly Gly  
 1 5

15 <210> 28  
 <211> 20  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> Sintética

<400> 28

ES 2 752 248 T3

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

Gly Gly Gly Gly  
 20

<210> 29  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Sintética

<400> 29

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

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

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

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

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

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

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

<210> 30  
 <211> 120  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Sintética

<400> 30

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly





ES 2 752 248 T3

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

Glu Arg Val Ser Phe Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr Asn  
20 25 30

Ile His Trp Tyr Gln Gln Arg Thr Asn Gly Ser Pro Arg Leu Leu Ile  
35 40 45

Lys Tyr Ala Ser Glu Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
50 55 60

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

Glu Asp Ile Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Asn Asn Trp Pro Thr  
85 90 95

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys  
100 105

<210> 38  
<211> 119  
5 <212> PRT  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Sintética

10 <400> 38

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

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

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

Gly Val Ile Trp Ser Gly Gly Asn Thr Asp Tyr Asn Thr Pro Phe Thr  
50 55 60

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

Lys Met Asn Ser Leu Gln Ser Asn Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala  
85 90 95

Arg Ala Leu Thr Tyr Tyr Asp Tyr Glu Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly  
100 105 110

15 Thr Leu Val Thr Val Ser Ala  
115

<210> 39  
<211> 11  
<212> PRT  
20 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Sintética

5 <400> 39

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr Asn Ile His  
 1 5 10

<210> 40  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

15 <220>  
 <223> Sintética

<400> 40

Tyr Ala Ser Glu Ser Ile Ser  
 1 5

20 <210> 41  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

25 <220>  
 <223> Sintética

<400> 41

30 Gln Gln Asn Asn Asn Trp Pro Thr Thr  
 1 5

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

35 <220>  
 <223> Sintética

40 <400> 42

Asn Tyr Gly Val His  
 1 5

45 <210> 43  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

50 <220>  
 <223> Sintética

55 <400> 43

Val Ile Trp Ser Gly Gly Asn Thr Asp Tyr Asn Thr Pro Phe Thr Ser  
 1 5 10 15

60 <210> 44  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

ES 2 752 248 T3

<220>

<223> Sintética

5 <400> 44

Ala Leu Thr Tyr Tyr Asp Tyr Glu Phe Ala Tyr  
1 5 10

<210> 45

10 <211> 330

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Sintética

<400> 45

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys  
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr  
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser  
35 40 45

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

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

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys  
85 90 95

ES 2 752 248 T3

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys  
 100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro  
 115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys  
 130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp  
 145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu  
 165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu  
 180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn  
 195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly  
 210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu  
 225 230 235 240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr  
 245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn  
 260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe  
 275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn  
 290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr  
 305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 325 330

<210> 46  
 <211> 326  
 5 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Sintética

10 <400> 46

ES 2 752 248 T3

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg  
 1 5 10 15

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser  
 35 40 45

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

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

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys  
 85 90 95

Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro  
 100 105 110

Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp  
 115 120 125

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp  
 130 135 140

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly  
 145 150 155 160

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn  
 165 170 175

Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp  
 180 185 190

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro  
 195 200 205

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu  
 210 215 220

ES 2 752 248 T3

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn  
225 230 235 240

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile  
245 250 255

Ser Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr  
260 265 270

Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys  
275 280 285

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys  
290 295 300

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu  
305 310 315 320

Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
325

<210> 47  
<211> 377  
5 <212> PRT  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Sintética

10 <400> 47

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg  
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr  
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser  
35 40 45

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

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

Tyr Thr Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys  
85 90 95

ES 2 752 248 T3

Arg Val Glu Leu Lys Thr Pro Leu Gly Asp Thr Thr His Thr Cys Pro  
 100 105 110

Arg Cys Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg  
 115 120 125

Cys Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys  
 130 135 140

Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro  
 145 150 155 160

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys  
 165 170 175

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val  
 180 185 190

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Lys Trp Tyr  
 195 200 205

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu  
 210 215 220

Gln Tyr Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His  
 225 230 235 240

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys  
 245 250 255

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln  
 260 265 270

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met  
 275 280 285

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro  
 290 295 300

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Ser Gly Gln Pro Glu Asn Asn  
 305 310 315 320

Tyr Asn Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu  
 325 330 335

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Ile  
 340 345 350  
 Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Arg Phe Thr Gln  
 355 360 365

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 370 375

<210> 48  
 <211> 327  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

5

ES 2 752 248 T3

<220>

<223> Sintética

<400> 48

5

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg  
1 5 10 15

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser  
35 40 45

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

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr  
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys  
85 90 95

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

Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys  
115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val  
130 135 140

Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp  
145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe  
165 170 175

ES 2 752 248 T3

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp  
180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu  
195 200 205

Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg  
210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys  
225 230 235 240 245

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp  
245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys  
260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser  
275 280 285

Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser  
290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser  
305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys  
325

<210> 49

<211> 402

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

10

<400> 49

Ser Pro Gly Gln Gly Thr Gln Ser Glu Asn Ser Cys Thr His Phe Pro  
1 5 10 15

Gly Asn Leu Pro Asn Met Leu Arg Asp Leu Arg Asp Ala Phe Ser Arg  
20 25 30

Val Lys Thr Phe Phe Gln Met Lys Asp Gln Leu Asp Asn Leu Leu Leu  
35 40 45

ES 2 752 248 T3

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

ES 2 752 248 T3

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu  
305 310 315 320

Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp  
325 330 335

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

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp  
355 360 365

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His  
370 375 380

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro  
385 390 395 400

Gly Lys

<210> 50  
<211> 1206  
5 <212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
10 <223> Sintética

<400> 50

```

agccccggcc agggcacaca gtccgagaac agctgcaccc actttcccgg caacctgcct      60
aacatgctga gggacctgag ggacgccttc agcagggtga agaccttctt ccagatgaag      120
gaccagctgg ataacctgct gctgaaggag agcctgctgg aggacttcaa gggctacctg      180
ggctgccagg ccttgagcga gatgatccag ttctacctgg aggaggatgat gccccaggcc      240
gagaaccagg accccgacat caaggcccac gtgaacagcc tgggcgagaa cctgaagacc      300
ctgaggctga ggctgaggag gtgccacagg ttctgcctgt gtgagaacaa atccaaggcc      360
gtggagcagg tgaagaacgc cttcaacaag ctgcaggaaa agggcatcta caaggccatg      420
agcgagtctg acatctttat caactatata gaggcctaca tgacaatgaa gatcaggaac      480
ggcggcggcg gcagcggggg cggcggcagc ggaggaggcg gcagcgacaa gaccacacc      540
tgccccctt gcccgctcc ggagctgctg ggcgccccca gcgtgttctt gttcccccc      600
aagcccaagg acaccctgat gatcagccgc acccccgagg tgacctgcgt ggtggtggac      660
gtgagccacg aggaccccg ggtgaagttc aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcac      720
aacgccaaga ccaagccccg cgaggagcag tacaacagca cctaccgcgt ggtgagcgtg      780
    
```

ES 2 752 248 T3

ctgaccgtgc tgcaccagga ctggctgaac ggcaaggagt acaagtgcaa ggtgagcaac 840  
 aaggccctgc ccgccccat cgagaagacc atcagcaagg ccaagggcca gccccgcgag 900  
 ccccaggtgt gcaccctgcc ccccagccgc gacgagctga ccaagaacca ggtgagcctg 960  
 agctgcgccc tgaagggctt ctaccccagc gacatcgccg tggagtggga gagcaacggc 1020  
 cagccccgaga acaactacaa gaccaccccc cccgtgctgg acagcgacgg cagcttcttc 1080  
 ctggtgagca agctgaccgt ggacaagagc cgctggcagc agggcaacgt gttcagctgc 1140  
 agcgtgatgc acgaggccct gcacaaccac tacaccaga agagcctgag cctgagcccc 1200  
 ggcaag 1206

<210> 51  
 <211> 577  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Sintética

<400> 51

Ser Pro Gly Gln Gly Thr Gln Ser Glu Asn Ser Cys Thr His Phe Pro  
 1 5 10 15  
 Gly Asn Leu Pro Asn Met Leu Arg Asp Leu Arg Asp Ala Phe Ser Arg  
 20 25 30  
 Val Lys Thr Phe Phe Gln Met Lys Asp Gln Leu Asp Asn Leu Leu Leu  
 35 40 45  
 Lys Glu Ser Leu Leu Glu Asp Phe Lys Gly Tyr Leu Gly Cys Gln Ala  
 50 55 60  
 Leu Ser Glu Met Ile Gln Phe Tyr Leu Glu Glu Val Met Pro Gln Ala  
 65 70 75 80  
 Glu Asn Gln Asp Pro Asp Ile Lys Ala His Val Asn Ser Leu Gly Glu  
 85 90 95  
 Asn Leu Lys Thr Leu Arg Leu Arg Leu Arg Arg Cys His Arg Phe Leu  
 100 105 110  
 Pro Cys Glu Asn Lys Ser Lys Ala Val Glu Gln Val Lys Asn Ala Phe  
 115 120 125  
 Asn Lys Leu Gln Glu Lys Gly Ile Tyr Lys Ala Met Ser Glu Phe Asp  
 130 135 140

ES 2 752 248 T3

Ile Phe Ile Asn Tyr Ile Glu Ala Tyr Met Thr Met Lys Ile Arg Asn  
 145 150 155 160

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser  
 165 170 175

Pro Gly Gln Gly Thr Gln Ser Glu Asn Ser Cys Thr His Phe Pro Gly  
 180 185 190

Asn Leu Pro Asn Met Leu Arg Asp Leu Arg Asp Ala Phe Ser Arg Val  
 195 200 205

Lys Thr Phe Phe Gln Met Lys Asp Gln Leu Asp Asn Leu Leu Leu Lys  
 210 215 220

Glu Ser Leu Leu Glu Asp Phe Lys Gly Tyr Leu Gly Cys Gln Ala Leu  
 225 230 235 240

Ser Glu Met Ile Gln Phe Tyr Leu Glu Glu Val Met Pro Gln Ala Glu  
 245 250 255

Asn Gln Asp Pro Asp Ile Lys Ala His Val Asn Ser Leu Gly Glu Asn  
 260 265 270

Leu Lys Thr Leu Arg Leu Arg Leu Arg Arg Cys His Arg Phe Leu Pro  
 275 280 285

Cys Glu Asn Lys Ser Lys Ala Val Glu Gln Val Lys Asn Ala Phe Asn  
 290 295 300

Lys Leu Gln Glu Lys Gly Ile Tyr Lys Ala Met Ser Glu Phe Asp Ile  
 305 310 315 320

Phe Ile Asn Tyr Ile Glu Ala Tyr Met Thr Met Lys Ile Arg Asn Gly  
 325 330 335

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Lys  
 340 345 350

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro  
 355 360 365

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser  
 370 375 380

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp  
 385 390 395 400

ES 2 752 248 T3

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn  
 405 410 415

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val  
 420 425 430

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu  
 435 440 445

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys  
 450 455 460

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr  
 465 470 475 480

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser  
 485 490 495

Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu  
 500 505 510

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu  
 515 520 525

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys  
 530 535 540

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu  
 545 550 555 560

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 565 570 575

Lys

<210> 52

<211> 1731

5 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

10

<400> 52

agccccggcc agggcacaca gtccgagaac agctgcaccc actttcccgg caacctgcct 60

aacatgctga gggacctgag ggacgccttc agcagggtga agaccttctt ccagatgaag 120

ES 2 752 248 T3

gaccagctgg ataacctgct gctgaaggag agcctgctgg aggacttcaa gggctacctg 180  
 ggctgccagg ccctgagcga gatgatccag ttctacctgg aggaggtgat gccccaggcc 240  
 gagaaccagg accccgacat caaggccac gtgaacagcc tggcgagaa cctgaagacc 300  
 ctgaggtga ggtgaggag gtgccacagg ttctgcccct gtgagaaca atccaaggcc 360  
 gtggagcagg tgaagaacgc cttcaacaag ctgcaggaaa agggcatcta caaggccatg 420  
 agcgagtgc acatctttat caactatata gaggcctaca tgacaatgaa gatcaggaac 480  
 ggcggcggcg gcagcggggg cggcggcagc ggaggaggcg gcagcagccc cggccagggc 540  
 acacagtccg agaacagctg caccacttt cccgcaacc tgcctaacat gctgagggac 600  
 ctgagggacg ccttcagcag ggtgaagacc ttcttccaga tgaaggacca gctggataac 660  
 ctgctgctga aggagagcct gctggaggac ttcaagggct acctgggctg ccaggccctg 720  
 agcgagatga tccagttcta cctggaggag gtgatgcccc aggccgagaa ccaggacccc 780  
 gacatcaagg cccacgtgaa cagcctgggc gagaacctga agaccctgag gctgaggctg 840  
 aggaggtgcc acaggttctt gccctgtgag aacaaatcca aggccgtgga gcaggtgaag 900  
 aacgccttca acaagctgca ggaaaaggc atctacaagg ccatgagcga gttcgacatc 960  
 tttatcaact atatcgagcg ctacatgaca atgaagatca ggaacggcgg cggcggcagc 1020  
 gggggcggcg gcagcggagg aggcggcagc gacaagacc acacctgcc cccttgcccc 1080  
 gctccggagc tgctggcgg cccagcgtg ttctgttcc ccccaagcc caaggacacc 1140  
 ctgatgatca gccgcacccc cgaggtgacc tgcgtggtgg tggacgtgag ccacgaggac 1200  
 cccgaggtga agttcaactg gtacgtggac ggcgtggagg tgcacaacgc caagaccaag 1260  
 ccccgagagc agcagtacaa cagcacctac cgcgtggtga gcgtgctgac cgtgctgcac 1320  
 caggactggc tgaacggcaa ggagtacaag tgcaagggtga gcaacaaggc cctgcccgcc 1380  
 cccatcgaga agaccatcag caaggccaag ggccagcccc gcgagccca ggtgtgcacc 1440  
 ctgcccccca gcccgacga gctgaccaag aaccaggtga gcctgagctg cgccgtgaag 1500  
 ggcttctacc ccagcgacat cgccgtggag tgggagagca acggccagcc cgagaacaac 1560  
 tacaagacca cccccccgt gctggacagc gacggcagct tcttctggt gagcaagctg 1620  
 accgtggaca agagccgctg gcagcagggc aacgtgttca gctgcagcgt gatgcacgag 1680  
 gccctgcaca accactacac ccagaagagc ctgagcctga gccccggcaa g 1731

<210> 53  
 <211> 449  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

5

<220>  
 <223> Sintética

10

<400> 53

ES 2 752 248 T3

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



ES 2 752 248 T3

gaggtgcagc tggaggagag cggcgccggc ctggtgcagc ccggcggcag cctgcgcctg 60  
 agctgcgccg ccagcggcctt caccttcacc gactacacca tggactgggt gcgccaggcc 120  
 cccggaagg gcctggagtg ggtggccgac gtgaaccca acagcggcgg cagcatctac 180  
 aaccagcgtc tcaagggcgg cttcaccttg agcgtggacc gcagcaagaa caccctgtac 240  
 ctgcagatga acagcctgcg cggcgaggac accgccgtgt actactgcgc ccgcaacctg 300  
 ggccccagct tctacttcga ctactggggc cagggcaccc tggtgaccgt gagcagcggc 360  
 agcaccaagg gccccagcgt gttccccctg gccccagca gcaagagcac cagcggcggc 420  
 accgccgccc tgggctgcct ggtgaaggac tacttccccg agcccgtgac cgtgagctgg 480  
 aacagcggcg ccctgaccag cggcgtgcac accttccccg ccgtgctgca gagcagcggc 540  
 ctgtacagcc tgagcagcgt ggtgaccgtg cccagcagca gcctgggcac ccagacctac 600  
 atctgcaacg tgaaccacaa gccagcaac accaaggtgg acaagcgcgt ggagcccaag 660  
 agctgcgaca agaccacac ctgccccccc tggccccccc ccgagctgct gggcgcccc 720  
 agcgtgttcc tgttcccccc caagcccaag gacaccctga tgatcagccg cccccccgag 780  
 gtgacctgcg tgggggtgga cgtgagccac gaggaccccg aggtgaagtt caactggtac 840  
 gtggacggcg tggaggtgca caacgccaag accaagcccc gcgaggagca gtacaacagc 900  
 acctaccgcy tggtgagcgt gctgaccgtg ctgcaccagg actgggtgaa cggcaaggag 960  
 tacaagtgca aggtgagcaa caaggccctg cccgccccca tcgagaagac catcagcaag 1020  
 gccaaagggc agccccgcga gccccaggtg tacaccctgc ccccctgccg cgacgagctg 1080  
 accaagaacc aggtgagcct gtggtgcctg gtgaagggct tctaccccag cgacatcgcc 1140  
 gtggagtggg agagcaacgg ccagcccggag aacaactaca agaccacccc ccccgctgctg 1200  
 gacagcgacg gcagcttctt cctgtacagc aagctgaccg tggacaagag ccgctggcag 1260  
 cagggcaacg tgttcagctg cagcgtgatg cacgaggccc tgcacaacca ctacaccag 1320  
 aagagcctga gcctgagccc cggcaag 1347

<210> 55  
 <211> 214  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

5

<220>  
 <223> Sintética

10

<400> 55

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Ser Ile Gly



ES 2 752 248 T3

ggcaaggccc ccaagctgct gatctacagc gccagctacc gctacaccgg cgtgcccagc 180  
 cgcttcagcg gcagcggcag cggcaccgac ttcaccctga ccatcagcag cctgcagccc 240  
 gaggacttcg ccacctacta ctgccagcag tactacatct acccctacac cttcggccag 300  
 ggcaccaagg tggagatcaa gcgcaccgtg gccgccccca gcgtgttcat cttccccccc 360  
 agcgacgagc agctgaagag cggcaccgcc agcgtggtgt gcctgctgaa caacttctac 420  
 ccccgcgagg ccaaggtgca gtggaaggtg gacaacgccc tgcagagcgg caacagccag 480  
 gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctgagcag caccctgacc 540  
 ctgagcaagg ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc 600  
 ctgagcagcc ccgtgaccaa gagcttcaac cgcggcagat gc 642

5 <210> 57  
 <211> 119  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> Sintética  
 <400> 57

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

15 <210> 58  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> Sintética  
 <400> 58

ES 2 752 248 T3

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Ser Ile Gly  
 20 25 30

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

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60

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

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

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

5 <210> 59  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> Sintética  
 <400> 59

Asp Tyr Thr Met Asp  
 1 5

15 <210> 60  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> Sintética  
 <400> 60

Asp Val Asn Pro Asn Ser Gly Gly Ser Ile Tyr Asn Gln Arg Phe Lys  
 25 1 5 10 15

Gly

30 <210> 61  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

35 <220>  
 <223> Sintética  
 <400> 61



ES 2 752 248 T3

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

Asp Thr Val Ser Ile Thr Cys His Ser Ser Gln Asp Ile Asn Ser Asn  
20 25 30

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

Tyr His Gly Thr Asn Leu Asp Asp Glu Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Ala Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Ser  
65 70 75 80

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

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

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

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

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

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

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

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

Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
210

<210> 66

<211> 642

5 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

10

<400> 66

ES 2 752 248 T3

gacatcctga tgaccagag cccagcagc atgagcgtga gcctgggcga caccgtgagc 60  
 atcacctgcc acagcagcca ggacatcaac agcaacatcg gctggctgca gcagcgcccc 120  
 ggcaagagct tcaagggcct gatctaccac ggaccaacc tggacgacga ggtgcccagc 180  
 cgcttcagcg gcagcggcag cggcgccgac tacagcctga ccatcagcag cctggagagc 240  
 gaggacttcg ccgactacta ctgctgcag tacgcccagt tcccctggac cttcggcggc 300  
 ggcaccaagc tggagatcaa gcgcaccgtg gccgccccca gcgtgttcat cttccccccc 360  
 agcgcagcagc agctgaagag cggcaccgcc agcgtggtgt gcctgctgaa caacttctac 420  
 ccccgcgagg ccaaggtgca gtggaagtg gacaacgcc tgcagagcgg caacagccag 480  
 gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctgagcag caccctgacc 540  
 ctgagcaagg ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc 600  
 ctgagcagcc ccgtgaccaa gagcttcaac cgcggcgagt gc 642

<210> 67  
 <211> 446  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

5

<220>  
 <223> Sintética

10

<400> 67

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

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

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

Met Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Asn Thr Arg Tyr Asn Pro Ser Leu  
 50 55 60

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

ES 2 752 248 T3

Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Ile Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Val Thr Ala Gly Arg Gly Phe Pro Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val  
 100 105 110  
 Thr Val Ser Ala Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala  
 115 120 125  
 Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu  
 130 135 140  
 Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly  
 145 150 155 160  
 Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser  
 165 170 175  
 Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu  
 180 185 190  
 Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr  
 195 200 205  
 Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr  
 210 215 220  
 Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe  
 225 230 235 240  
 Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro  
 245 250 255  
 Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val  
 260 265 270  
 Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr  
 275 280 285  
 Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val  
 290 295 300  
 Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys  
 305 310 315 320  
 Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser  
 325 330 335

ES 2 752 248 T3

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

Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val  
 355 360 365

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

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

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

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

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

<210> 68  
 <211> 1338  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Sintética

<400> 68

gacgtgcagc tgcaggagag cggccccagc ctggtgaagc ccagccagag cctgagcctg	60
acctgcaccg tgaccggcta cagcatcacc agcgacttcg cctggaactg gatccgccag	120
ttccccggca acaagctgga gtggatgggc tacatcagct acagcggcaa caccgctac	180
aaccccagcc tgaagagccg catcagcatc acccgcgaca ccagcaagaa ccagttcttc	240
ctgcagctga acagcgtgac catcgaggac accgccacct actactgctg gaccgccggc	300
cgcggttcc cctactgggg ccagggcacc ctggtgaccg tgagcgccgc cagcaccaag	360
ggccccagcg tgttccccct ggccccagc agcaagagca ccagcggcgg caccgccgcc	420
ctgggctgcc tggatgaagga ctacttcccc gagccctgga ccgtgagctg gaacagcggc	480
gccctgacca gcggcgtgca caccttcccc gccgtgctgc agagcagcgg cctgtacagc	540
ctgagcagcg tggtgaccgt gccagcagc agcctgggca cccagaccta catctgcaac	600
gtgaaccaca agcccagcaa caccaaggtg gacaagcgcg tggagcccaa gagctgcgac	660
aagaccaca cctgcccccc ctgccccgcc cccgagctgc tggcggccc cagcgtgttc	720

ES 2 752 248 T3

ctgttcccc ccaagcccaa ggacaccctg atgatcagcc gcacccccga ggtgacctgc 780  
 gtggtggtgg acgtgagcca cgaggacccc gaggtgaagt tcaactggta cgtggacggc 840  
 gtggaggtgc acaacgccaa gaccaagccc cgcgaggagc agtacaacag cacctaccgc 900  
 gtggtgagcg tgctgaccgt gctgcaccag gactggctga acggcaagga gtacaagtgc 960  
 aaggtgagca acaaggccct gcccgcccc atcgagaaga ccatcagcaa ggccaagggc 1020  
 cagccccgcg agccccaggt gtacaccctg cccccctgcc gcgacgagct gaccaagaac 1080  
 caggtgagcc tgtggtgcct ggtgaagggc ttctacccca gcgacatcgc cgtggagtgg 1140  
 gagagcaacg gccagcccga gaacaactac aagaccaccc cccccgtgct ggacagcgac 1200  
 ggcagttct tcctgtacag caagctgacc gtggacaaga gccgctggca gcagggcaac 1260  
 gtgttcagct gcagcgtgat gcacgaggcc ctgcacaacc actacacca gaagagcctg 1320  
 agcctgagcc ccggcaag 1338

<210> 69  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Sintética

<400> 69

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

Asp Thr Val Ser Ile Thr Cys His Ser Ser Gln Asp Ile Asn Ser Asn  
 20 25 30

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

Tyr His Gly Thr Asn Leu Asp Asp Glu Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Ala Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Ser  
 65 70 75 80

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

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

<210> 70  
 <211> 116  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Sintética

<400> 70

ES 2 752 248 T3

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

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

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

Met Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Asn Thr Arg Tyr Asn Pro Ser Leu  
50 55 60

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

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

Val Thr Ala Gly Arg Gly Phe Pro Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val  
100 105 110

Thr Val Ser Ala  
115

5 <210> 71  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

10 <220>  
<223> Sintética  
<400> 71

His Ser Ser Gln Asp Ile Asn Ser Asn Ile Gly  
1 5 10

15 <210> 72  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

20 <220>  
<223> Sintética  
<400> 72

25 His Gly Thr Asn Leu Asp Asp  
1 5

30 <210> 73  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

35 <220>  
<223> Sintética  
<400> 73

Val Gln Tyr Ala Gln Phe Pro Trp Thr  
1 5

ES 2 752 248 T3

<210> 74  
 <211> 6  
 <212> PRT  
 5 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> Sintética  
  
 10 <400> 74  
  
 Ser Asp Phe Ala Trp Asn  
 1 5  
  
 <210> 75  
 15 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 20 <223> Sintética  
  
 <400> 75  
  
 Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Asn Thr Arg Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser  
 1 5 10 15  
 25  
 <210> 76  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 30  
 <220>  
 <223> Sintética  
  
 <400> 76  
 35  
 Ala Gly Arg Gly Phe Pro Tyr  
 1 5  
  
 <210> 77  
 <211> 15  
 40 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> Sintética  
 45  
 <400> 77  
  
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser  
 1 5 10 15  
 50  
 <210> 78  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> Sintética  
  
 <400> 78  
  
 Gly Gly Gly Gly Ser  
 1 5  
 60

<210> 79  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

5

<220>  
<223> Sintética

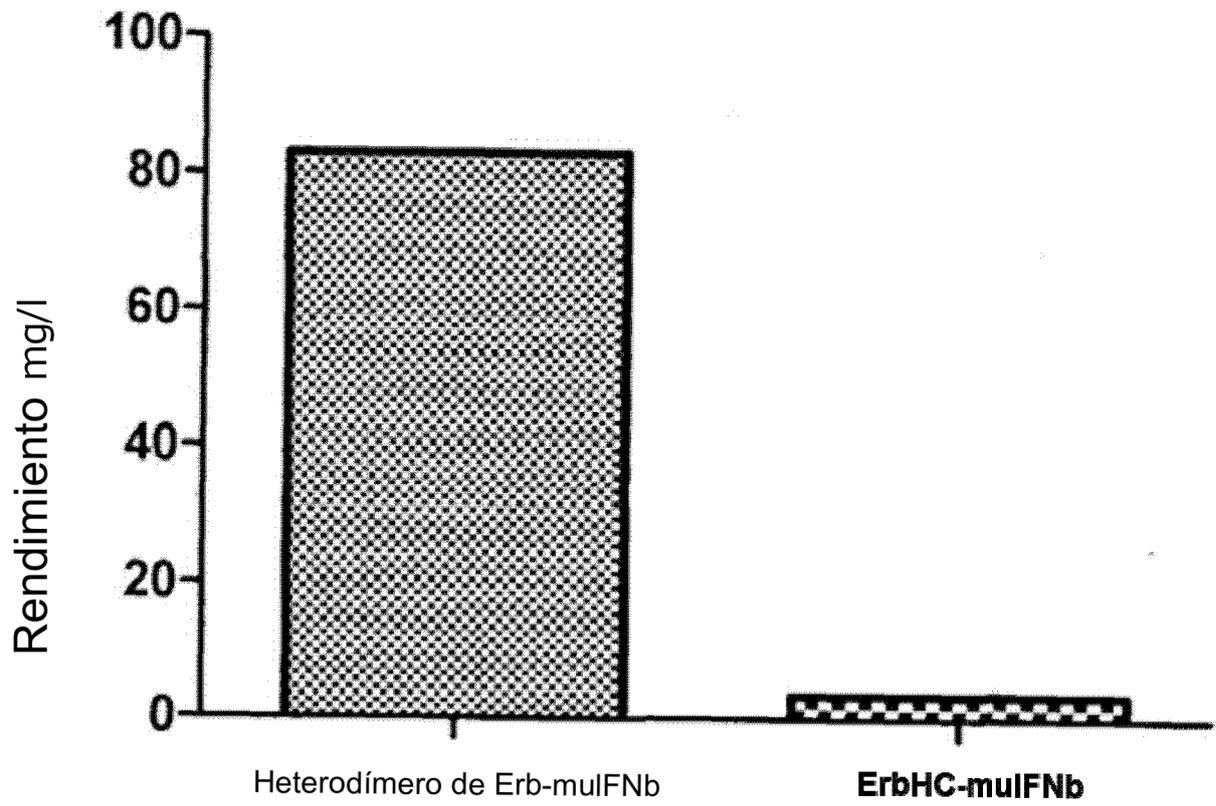
<400> 79

10

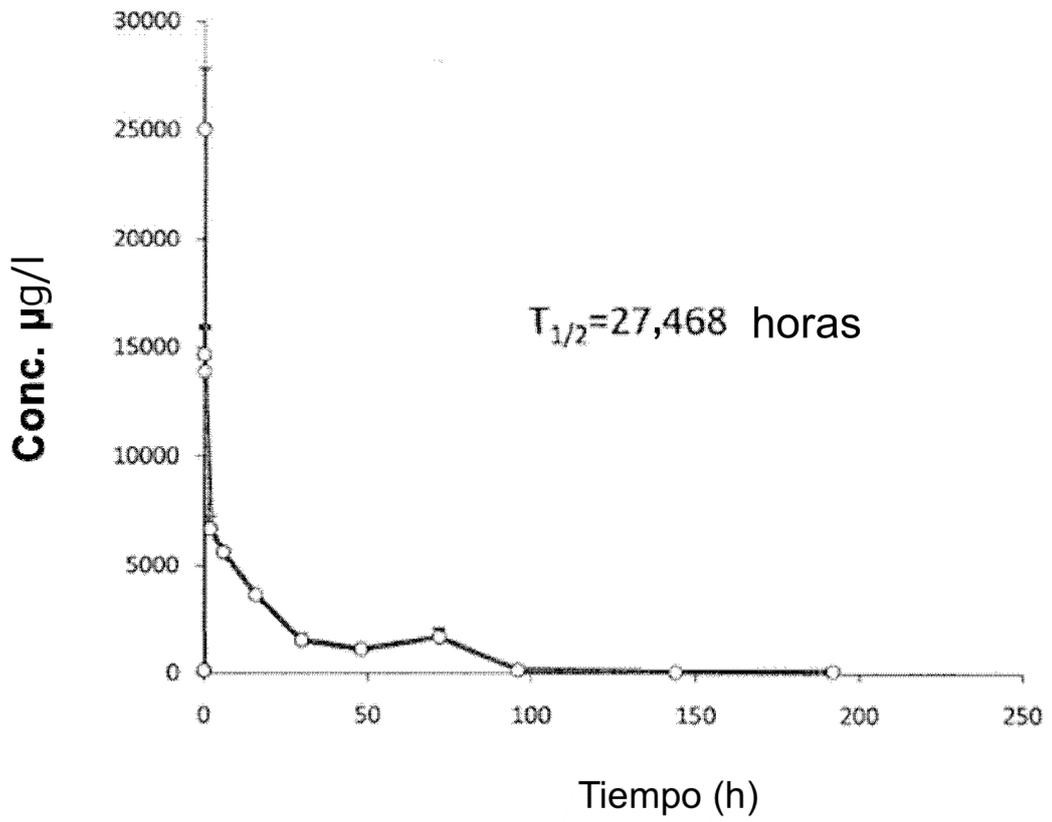
Gly Ala Pro Gly Gly  
1 5

**REIVINDICACIONES**

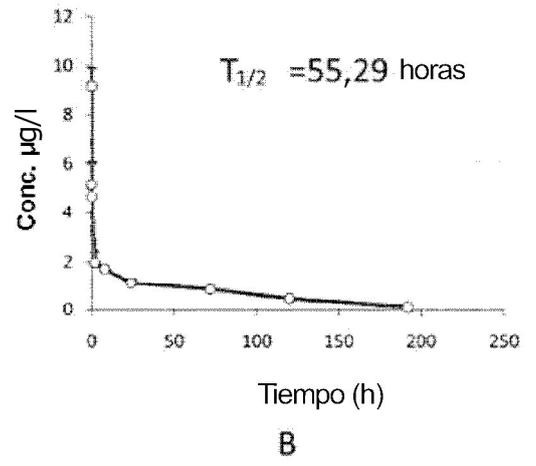
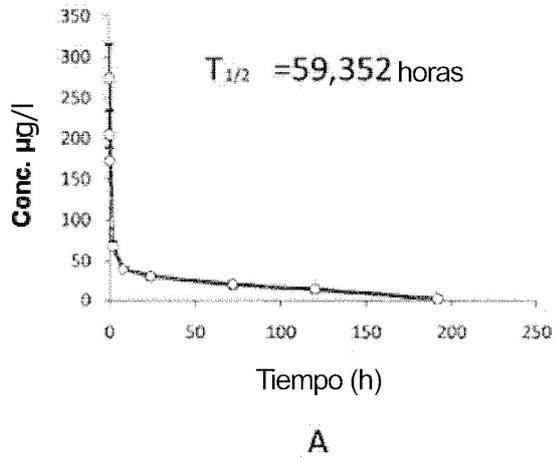
1. Complejo proteínico, que comprende (1) una cadena pesada y una cadena ligera de un anticuerpo específico para un antígeno tumoral; y (2) una proteína de fusión que consiste en, desde el extremo N-terminal al extremo C-terminal, uno o más inmunorreguladores fusionados a una región Fc de anticuerpo, opcionalmente por medio de uno o más ligadores, en el que la región Fc de anticuerpo de (2) se compleja con la cadena pesada de (1) para formar un heterodímero.
2. Complejo proteínico según la reivindicación 1, en el que dicho antígeno tumoral es un receptor de superficie celular seleccionado del grupo que consiste en receptor de factor de crecimiento transformante (TGFR), receptor de factor de crecimiento epidérmico (EGFR), receptor de factor de crecimiento similar a la insulina (IGFR), receptor de factor de crecimiento de fibroblastos (FGFR), receptor de heregulina, receptor de factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGFR), receptor de factor de crecimiento endotelial vascular (VEGFR) y receptor de factor inducible por hipoxia (HIFR).
3. Complejo proteínico según la reivindicación 1, en el que dicho antígeno tumoral es un factor de crecimiento, hormona o una molécula de la matriz extracelular seleccionada del grupo que consiste en factor de crecimiento transformante (TGF), factor de crecimiento epidérmico (EGF), factor de crecimiento similar a la insulina (IGF), factor de crecimiento de fibroblastos (FGF), heregulina, factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF), factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), factor inducible por hipoxia (HIF), c-Met, IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-11, IL-12, IL-13, IL-14, IL-15, IL-16, IL-17, IL-18, IL-19, IL-20, IL-21, IL-22, IL-23, IL-24, IL-25, IL-26, IL-27, IL-28, IL-29, IL-30, IL-31, IL-32, IL-33, IL-34, IL-35, IL-36, colágeno, elastina, biglicano, decorina, lumicano, versicano, perlecano, proteína C-reactiva, ApoE y lamininas.
4. Complejo proteínico según la reivindicación 1, en el que dicho antígeno tumoral se selecciona del grupo que consiste en mutante de EGFR, HER2/neu, HER3, HER4, CD4, CD19, CD20, CD22, CD29b, CD30, CD33, CD37, CD38, CD52, CD70, CD79b, CD123, CD138, CD200, CD276, CXCR3, CXCR5, CCR3, CCR4, CCR9, CRTH2, PMCH, endoplasmina, CS1, CEA, mesotelina, G250, MUC1, MUC16, PSMA, ADAM17, EPCAM, EphA2, MCSP, GPA33, NAPI2b, STEAP1, CEACAM1, CEACAM5, GPNMB y TROP.
5. Complejo proteínico según las reivindicaciones 2 o 4, en el que dicho antígeno tumoral es EGFR, un mutante de EGFR o HER2/neu.
6. Complejo proteínico según una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en el que el inmunorregulador es una citocina seleccionada del grupo que consiste en interferón, interleucina, quimiocina, linfocina y factor de necrosis tumoral.
7. Complejo proteínico según una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en el que el inmunorregulador se selecciona del grupo que consiste en interferón alfa, interferón lamda e interferón beta.
8. Complejo proteínico según una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en el que el inmunorregulador es interleucina 10.
9. Complejo proteínico según una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en el que la proteína de fusión consiste en, desde el extremo N-terminal al extremo C-terminal, dos o más inmunorreguladores fusionados en marco entre sí y con la región Fc de anticuerpo, opcionalmente con uno o más ligadores.
10. Complejo proteínico según una cualquiera de las reivindicaciones 1-9, en el que dicha cadena pesada del anticuerpo específico para el antígeno tumoral y dicha región Fc de anticuerpo de la proteína de fusión comprenden cada uno una secuencia de heterodimerización.
11. Polinucleótido aislado que codifica para el complejo proteínico según una cualquiera de las reivindicaciones 1-10.
12. Célula huésped aislada que comprende el polinucleótido aislado de la reivindicación 11.
13. Complejo proteínico según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, para el uso en la inhibición del crecimiento de un tumor o una célula tumoral.
14. Método de producción de un complejo proteínico, que comprende (i) cultivar la célula huésped según la reivindicación 12 en condiciones para efectuar la expresión de dicho complejo, y (ii) recoger dicho complejo expresado.



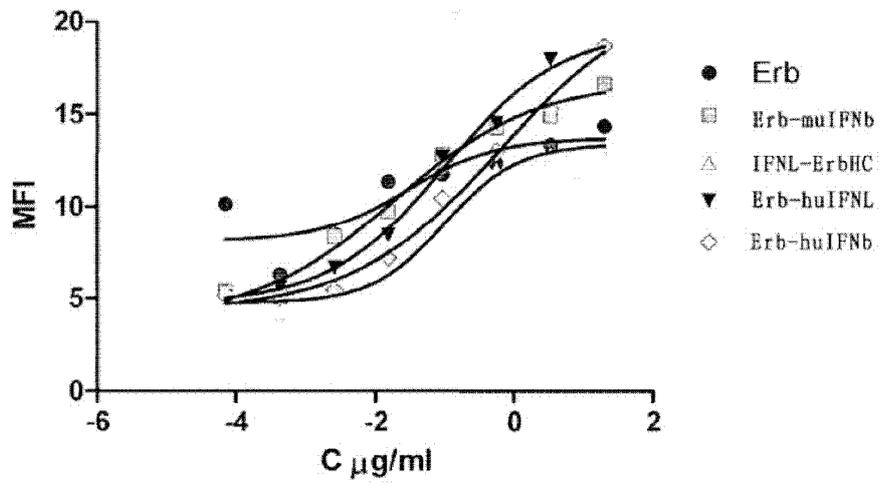
**FIG. 1**



**FIG. 2**



**FIG. 3**



	Erb	Erb-muIFNb	IFNL-ErbHC	Erb-huIFNL	Erb-huIFNb
CE <sub>50</sub>	0,03003	0,01868	0,1000	0,09806	0,6008

**FIG. 4**

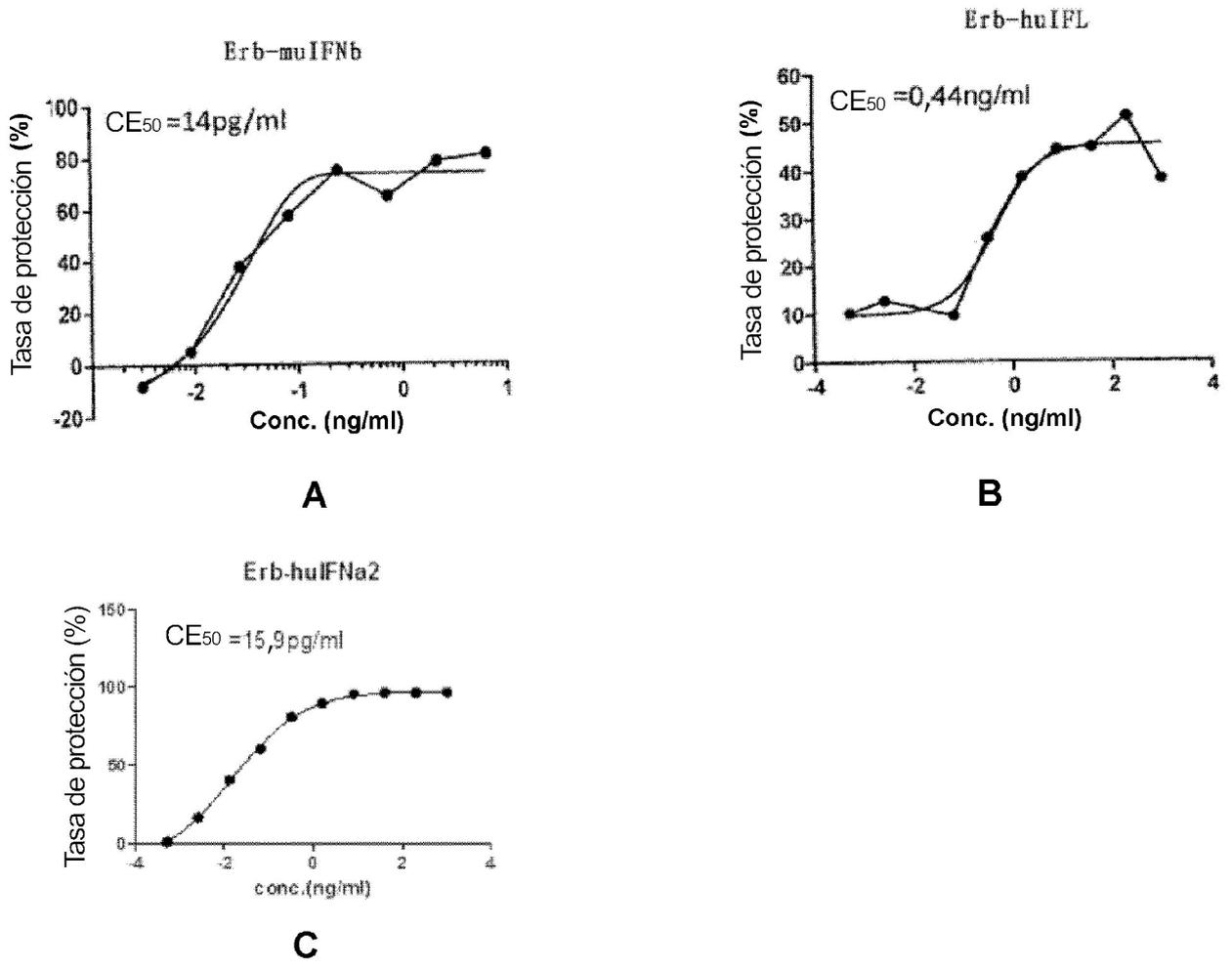


FIG. 5

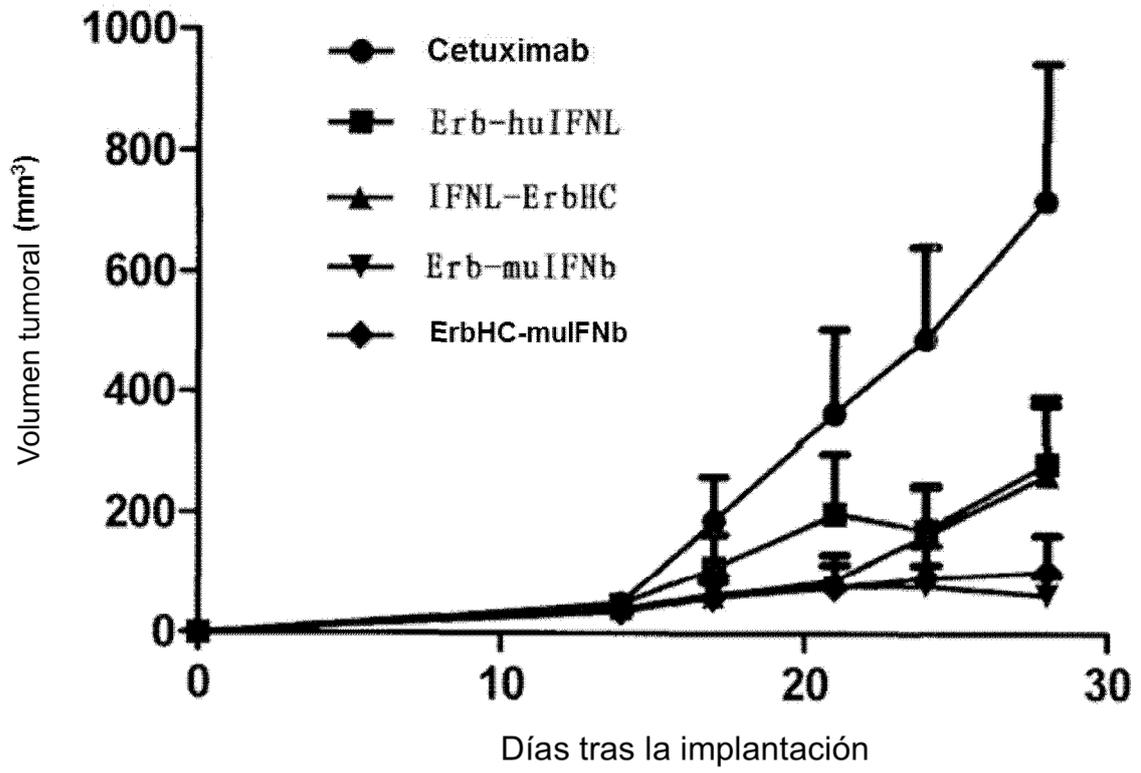
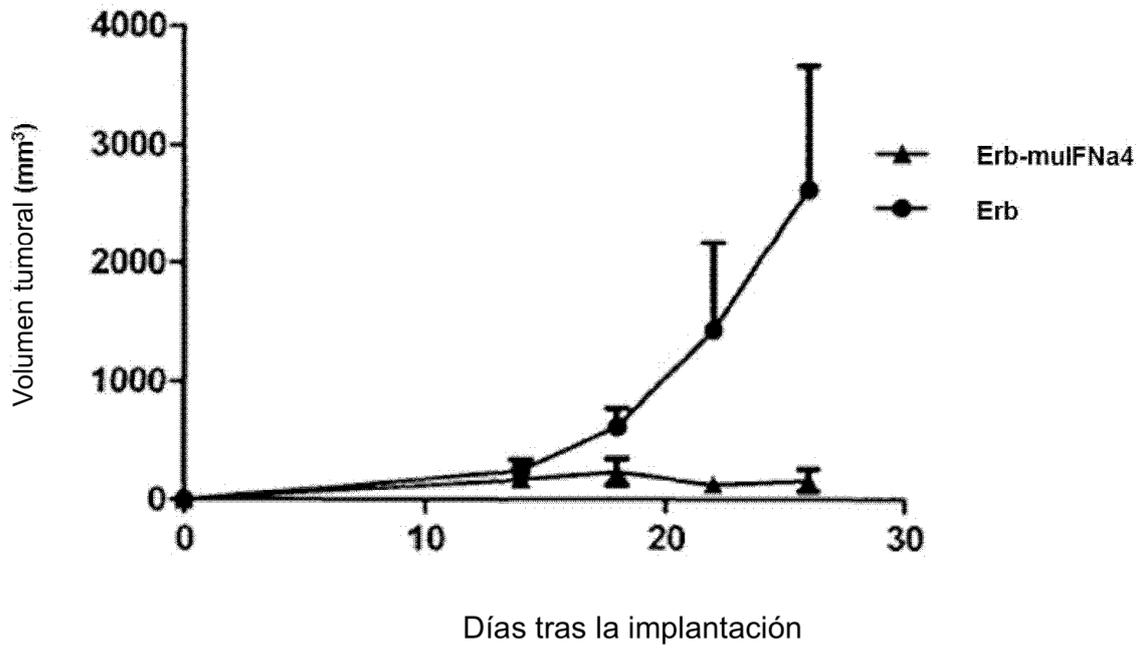


FIG. 6



**FIG. 7**

Proliferación de MCF-7

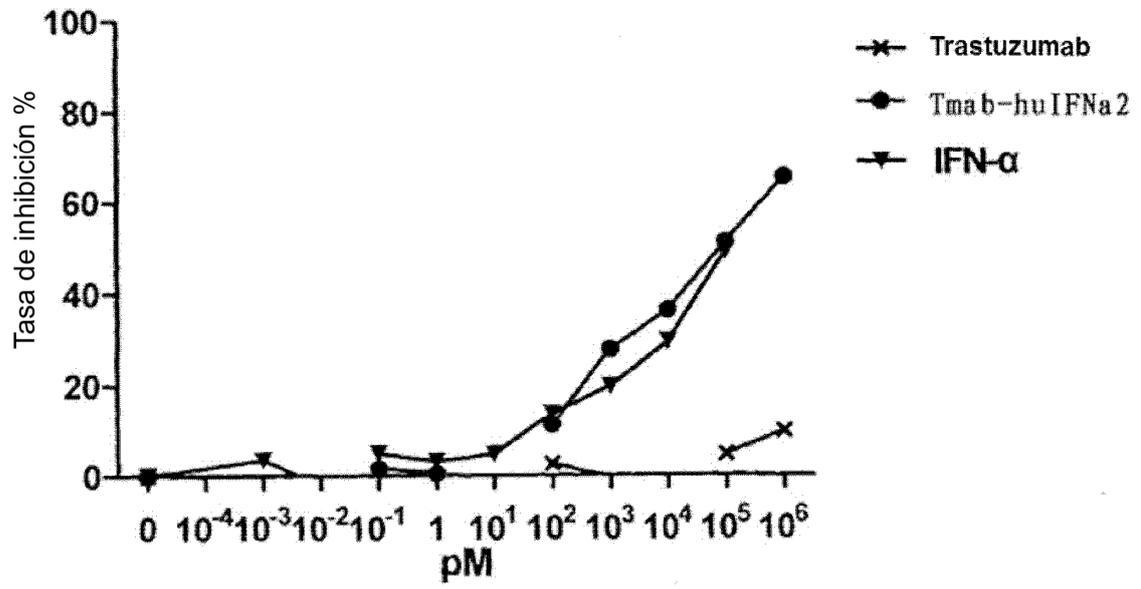


FIG. 8

Proliferación de A431

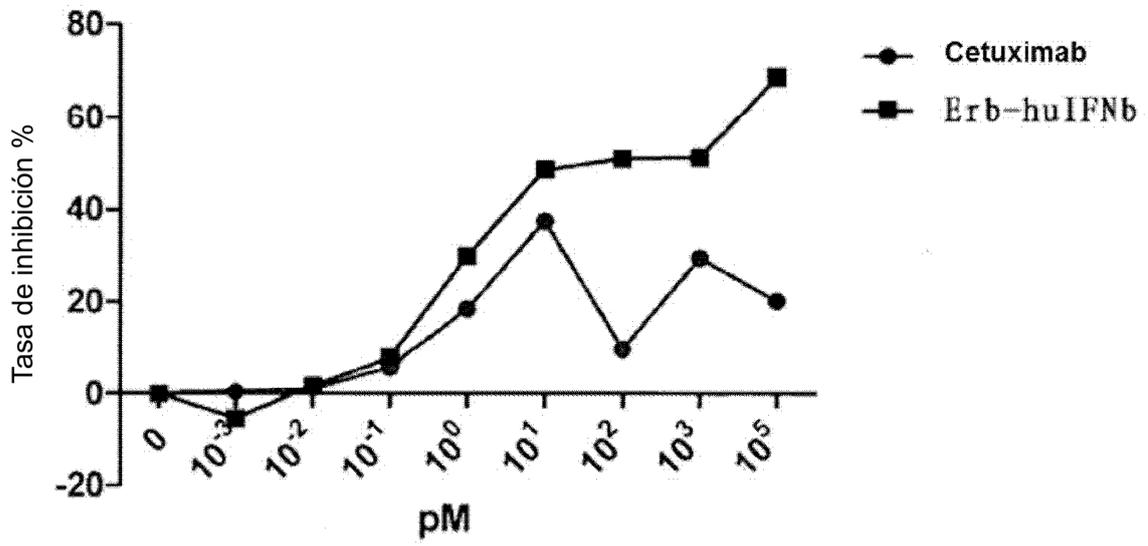


FIG. 9



**FIG. 10**

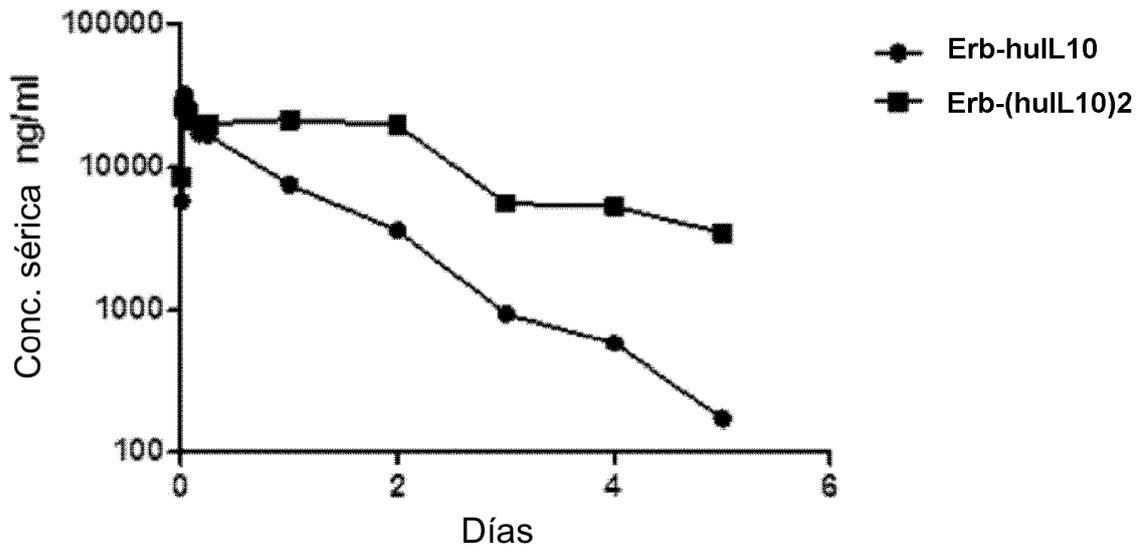


FIG. 11

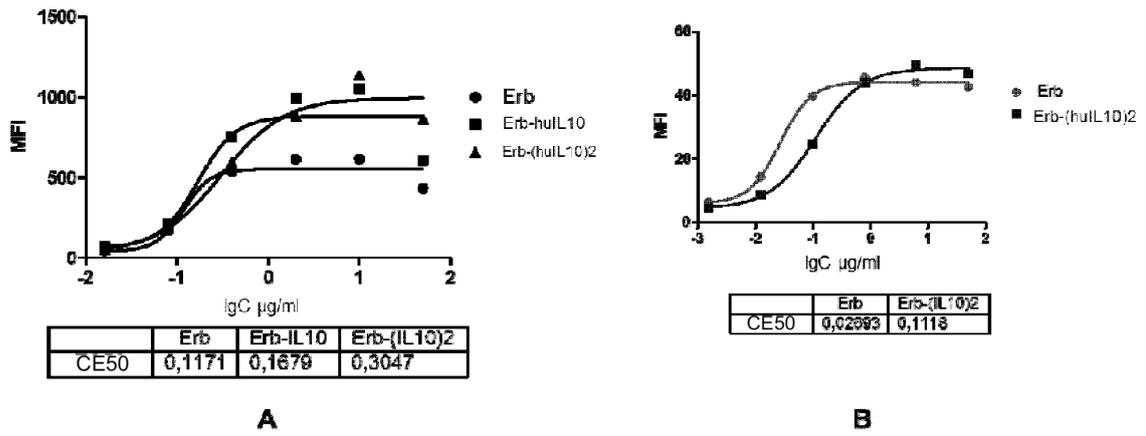
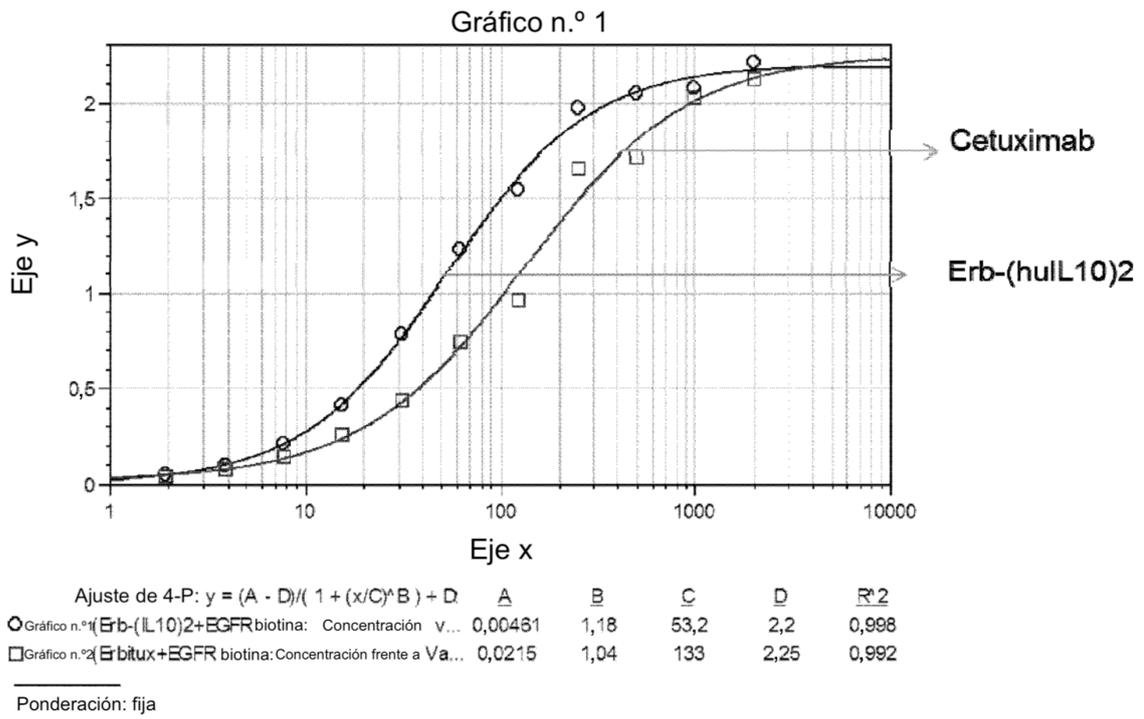
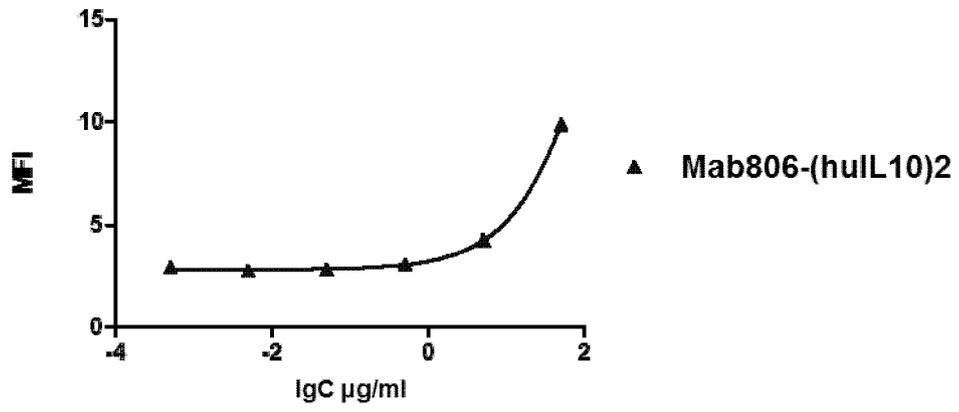


FIG. 12



**FIG. 13**



**FIG. 14**

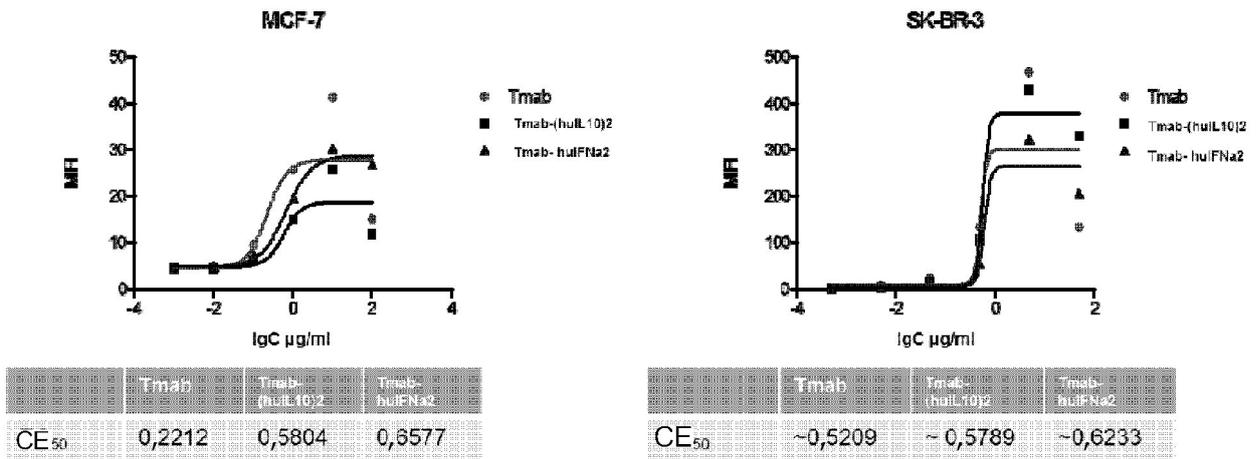
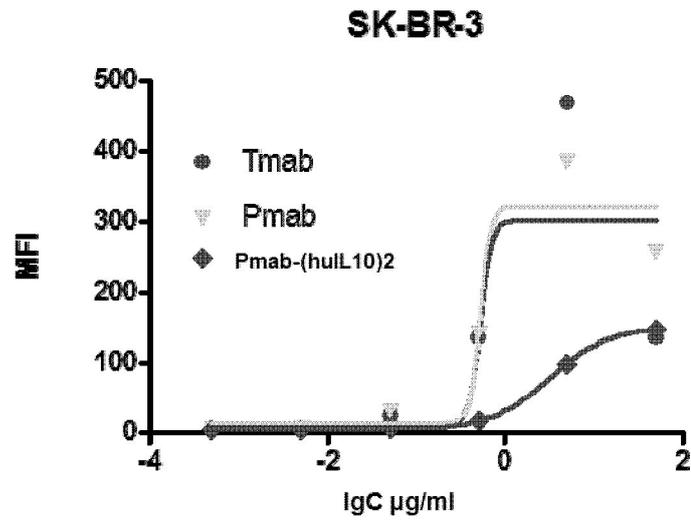


FIG. 15



	Tmab	Pmab	Pmab-(hull10)2
CE <sub>50</sub>	~0,5209	~ 0,5214	3,176

**FIG. 16**

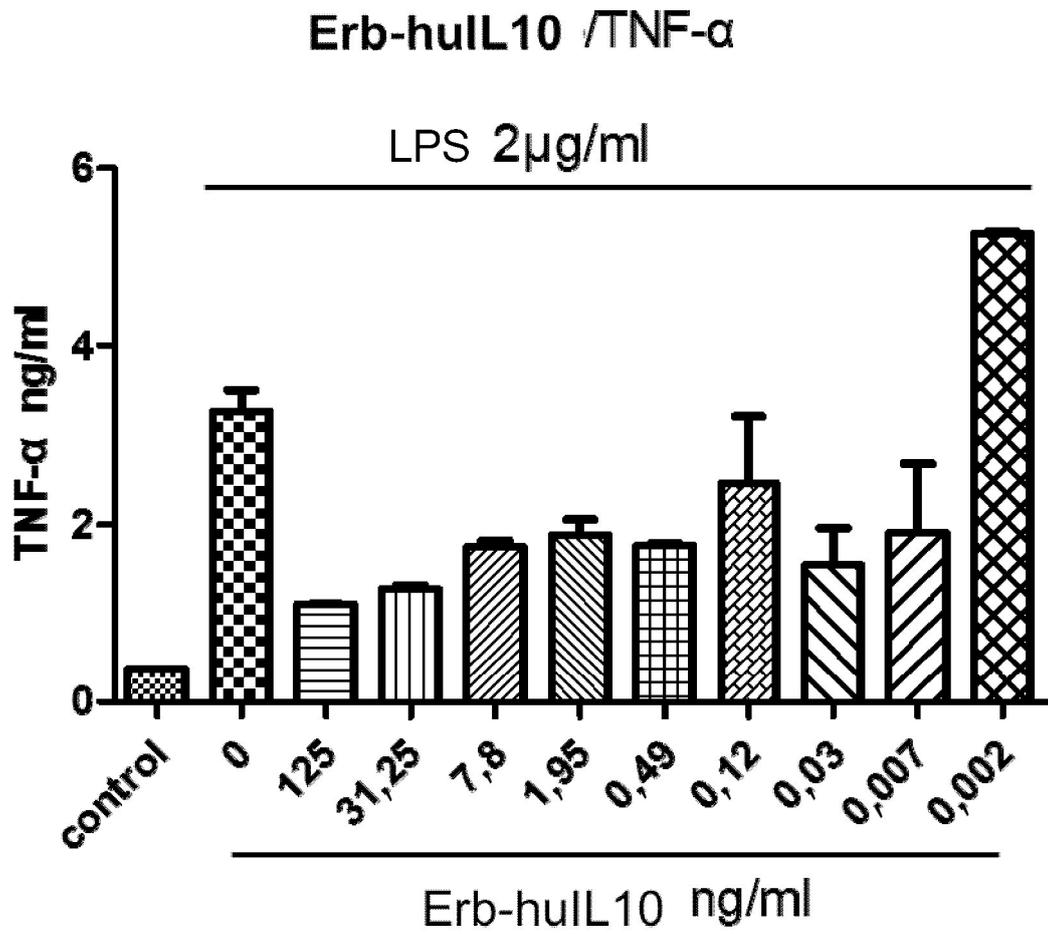


FIG. 17

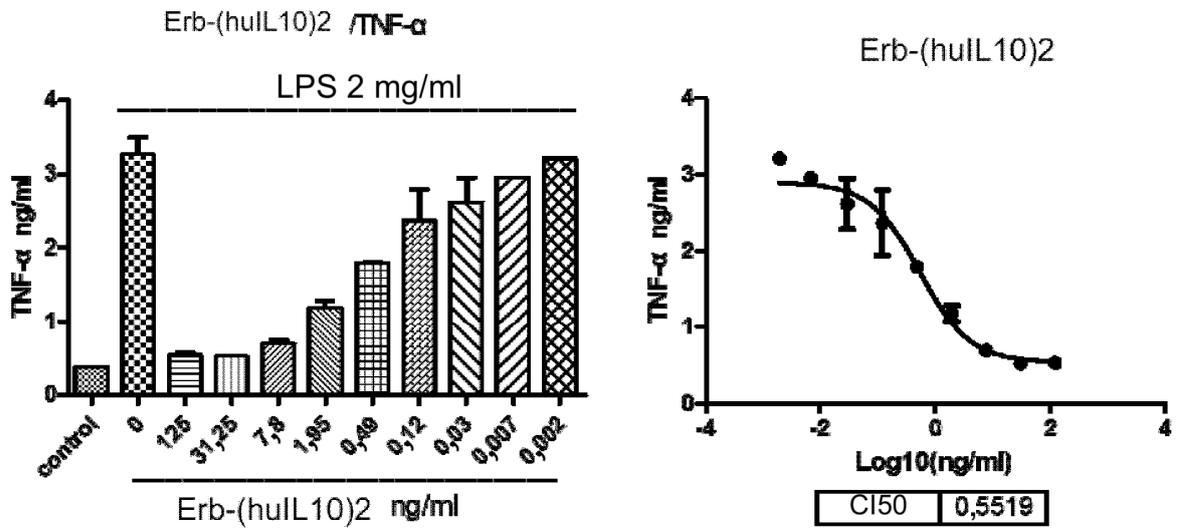
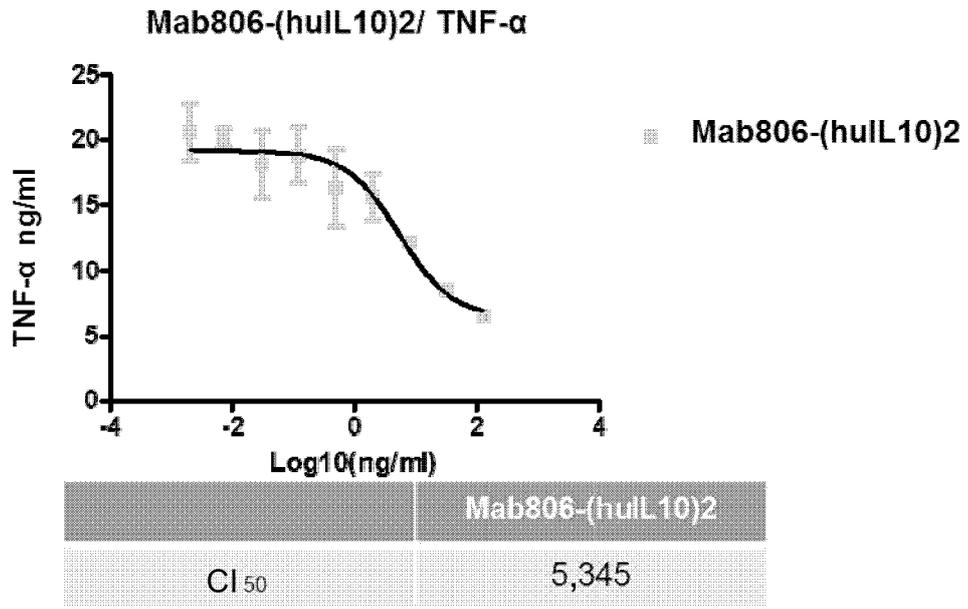


FIG. 18



**FIG. 19**

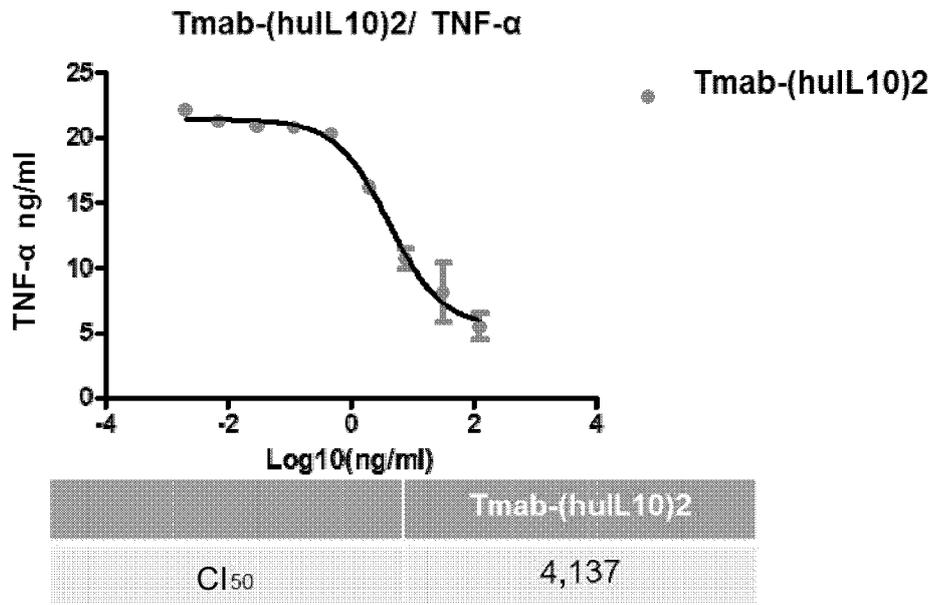


FIG. 20

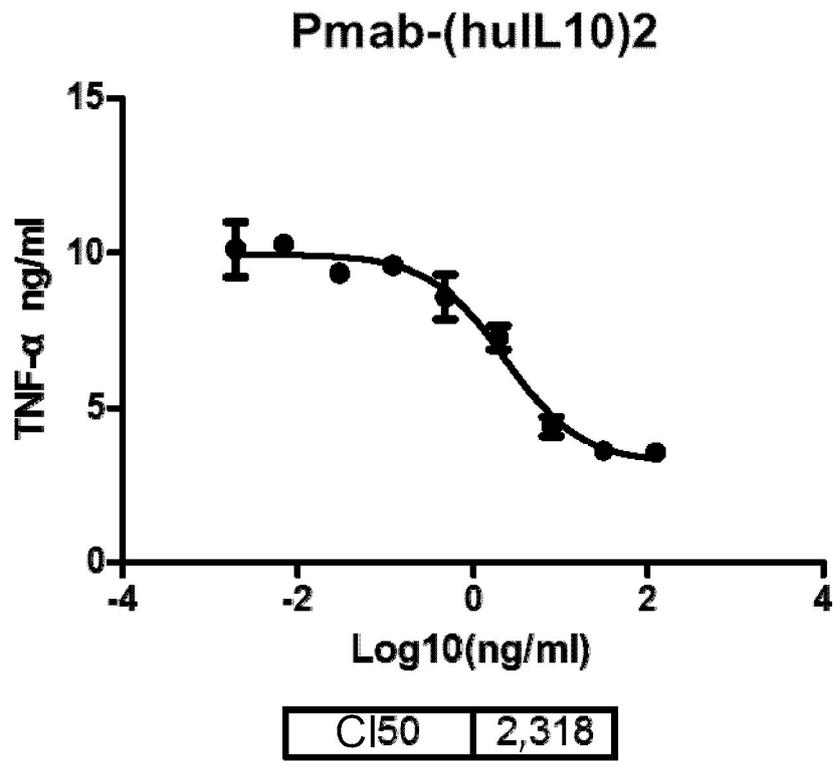


FIG. 21

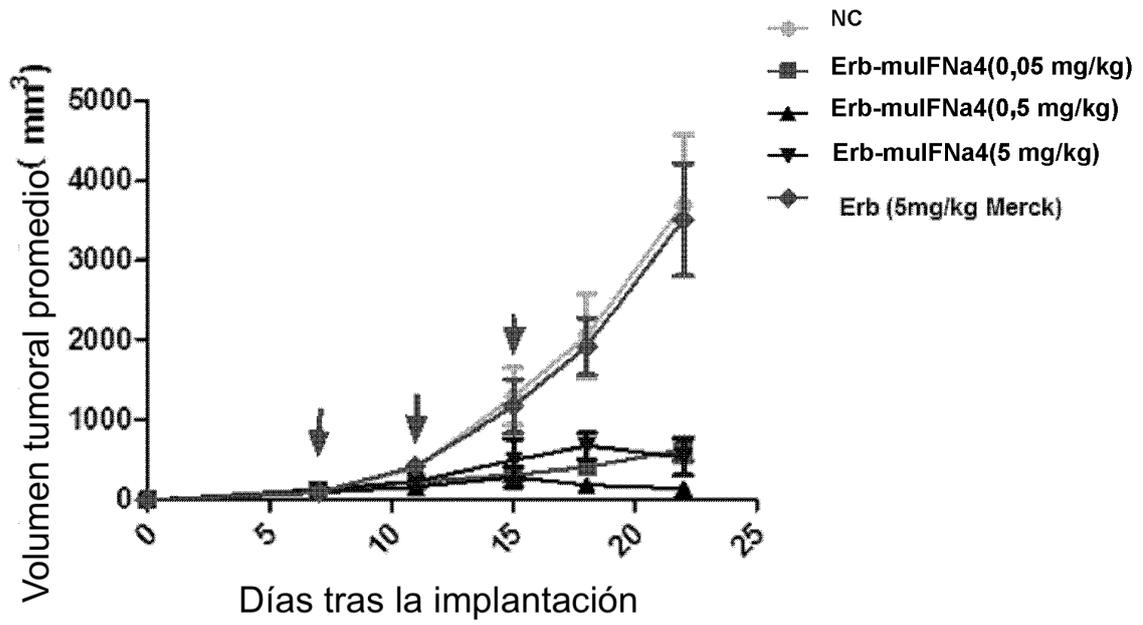


FIG. 22

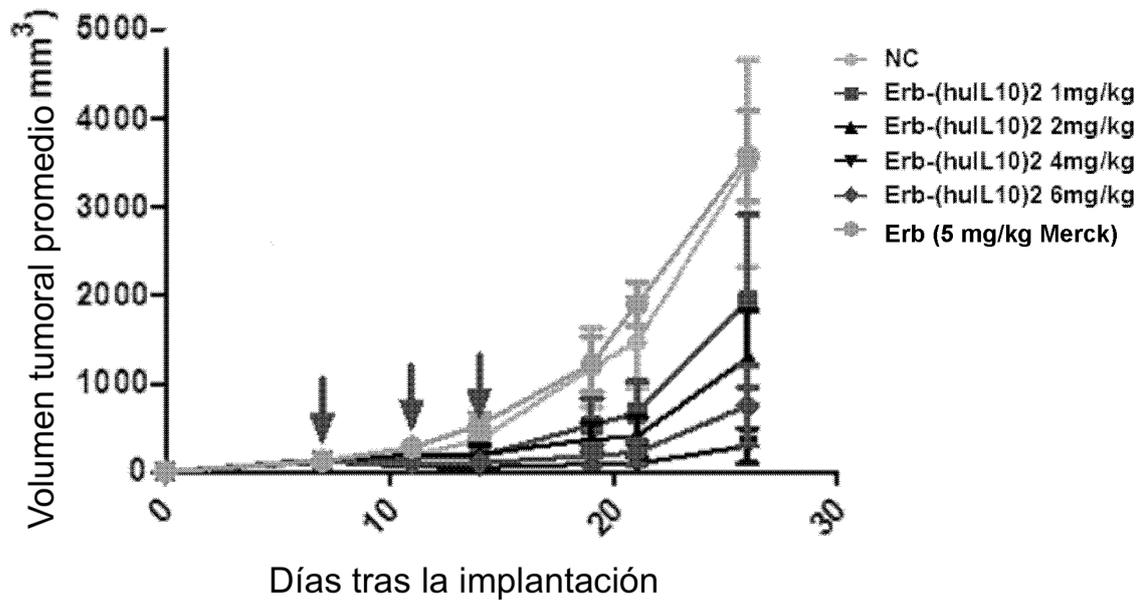


FIG. 23

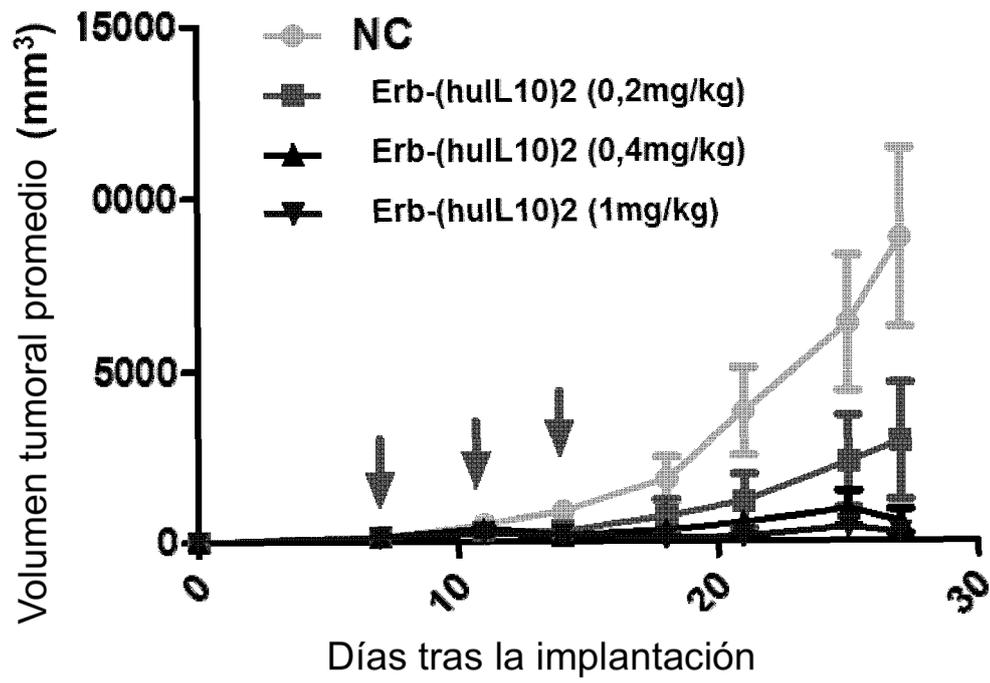


FIG. 24

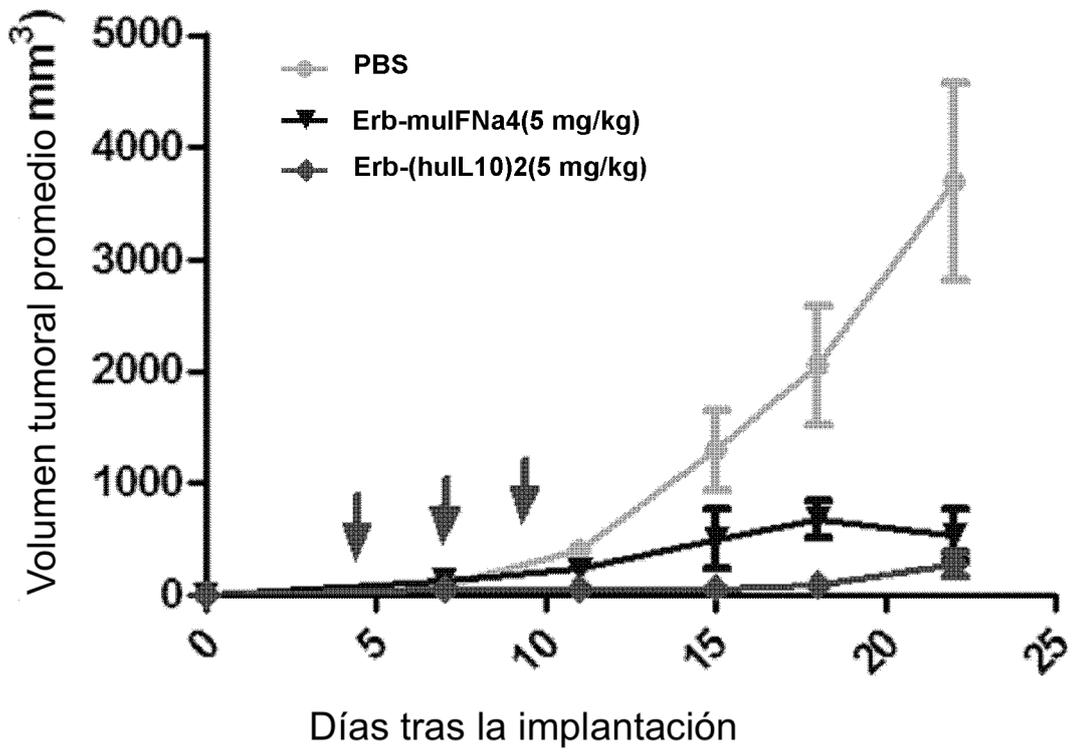


FIG. 25

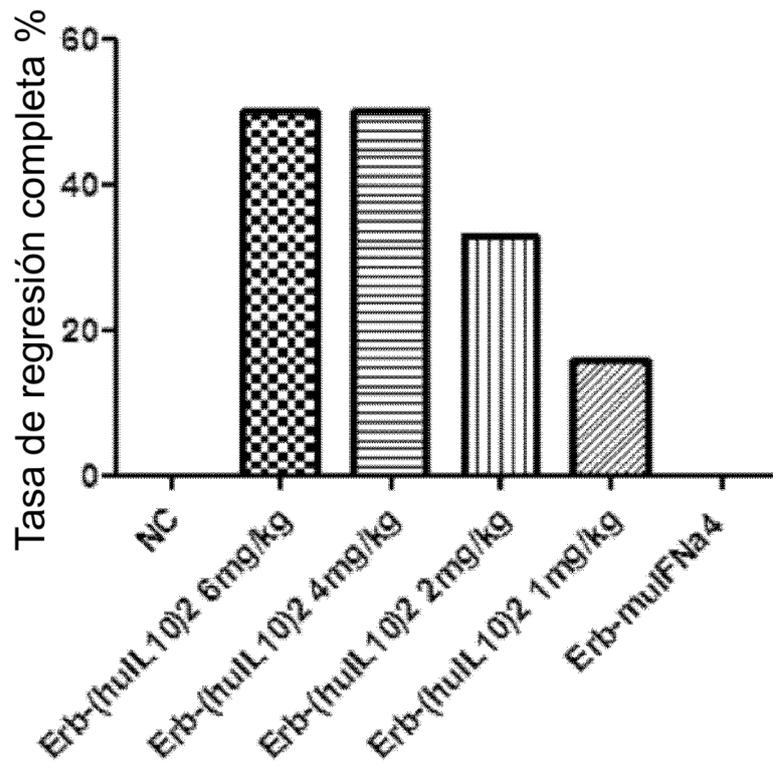


FIG. 26

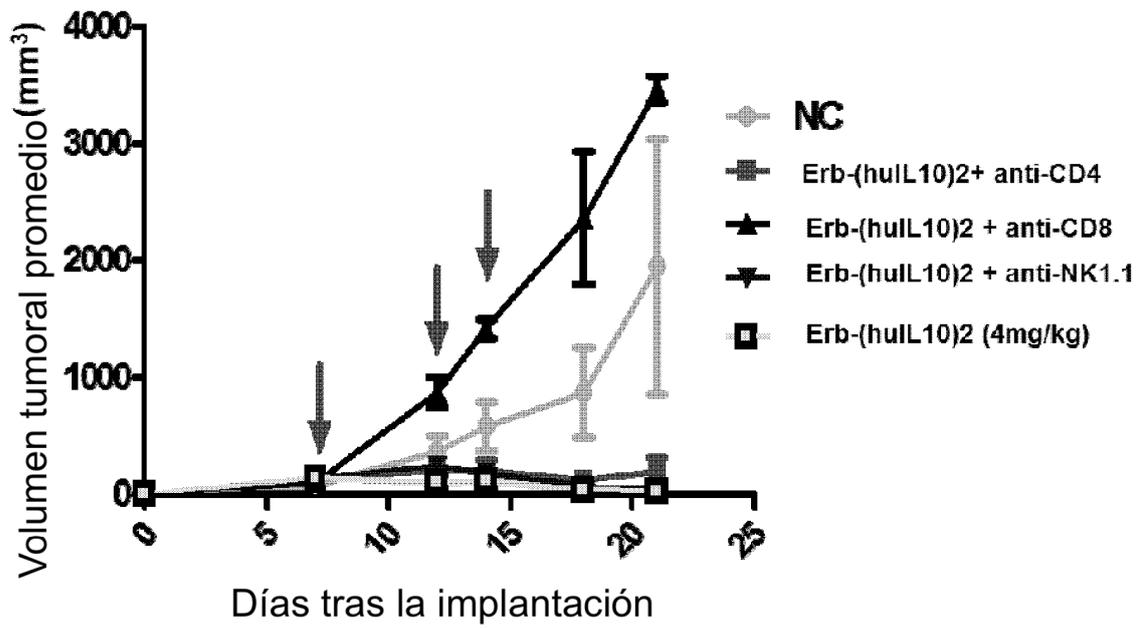


FIG. 27

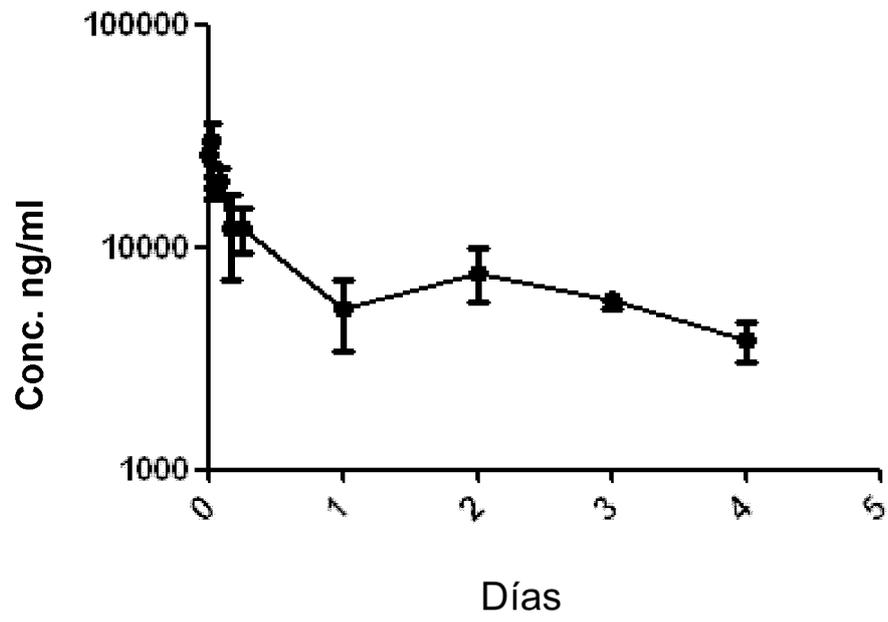
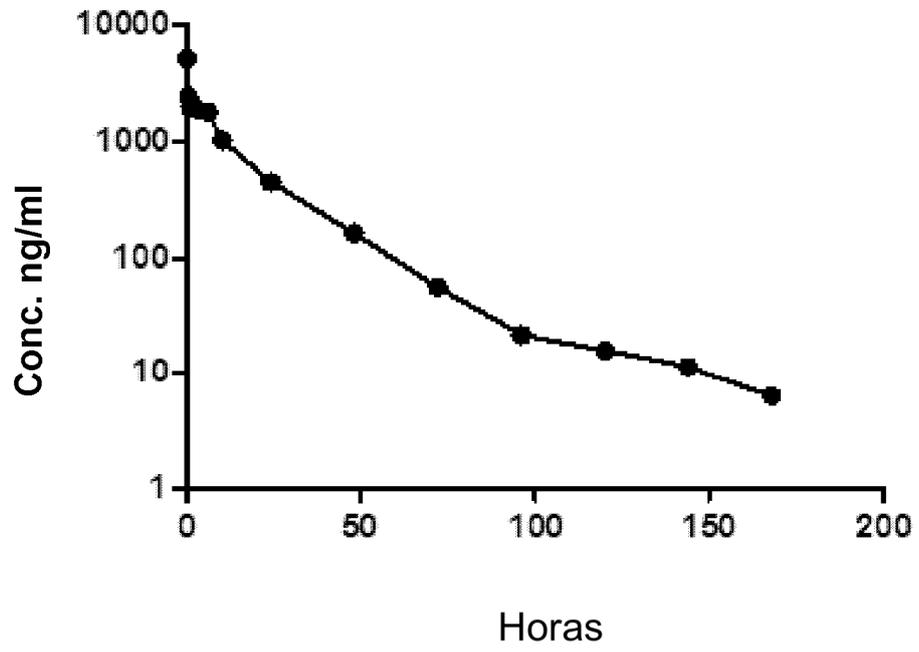
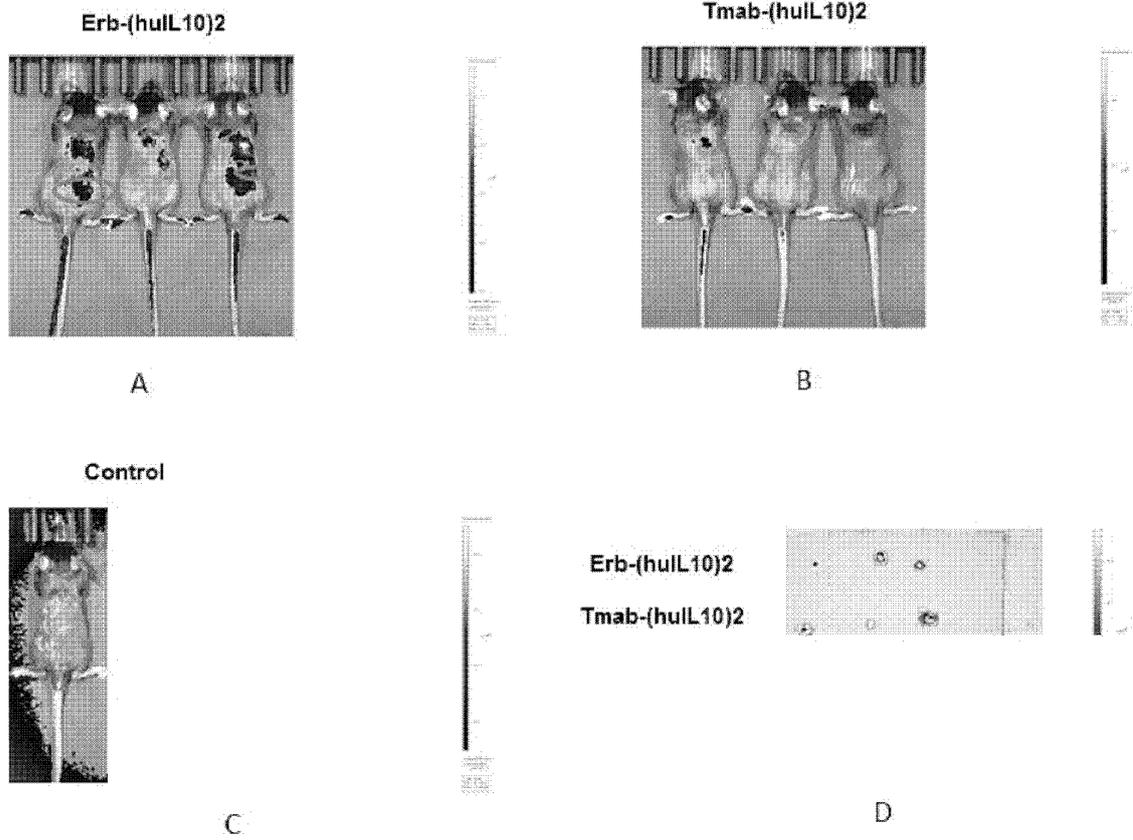


FIG. 28



**FIG. 29**



**FIG. 30**

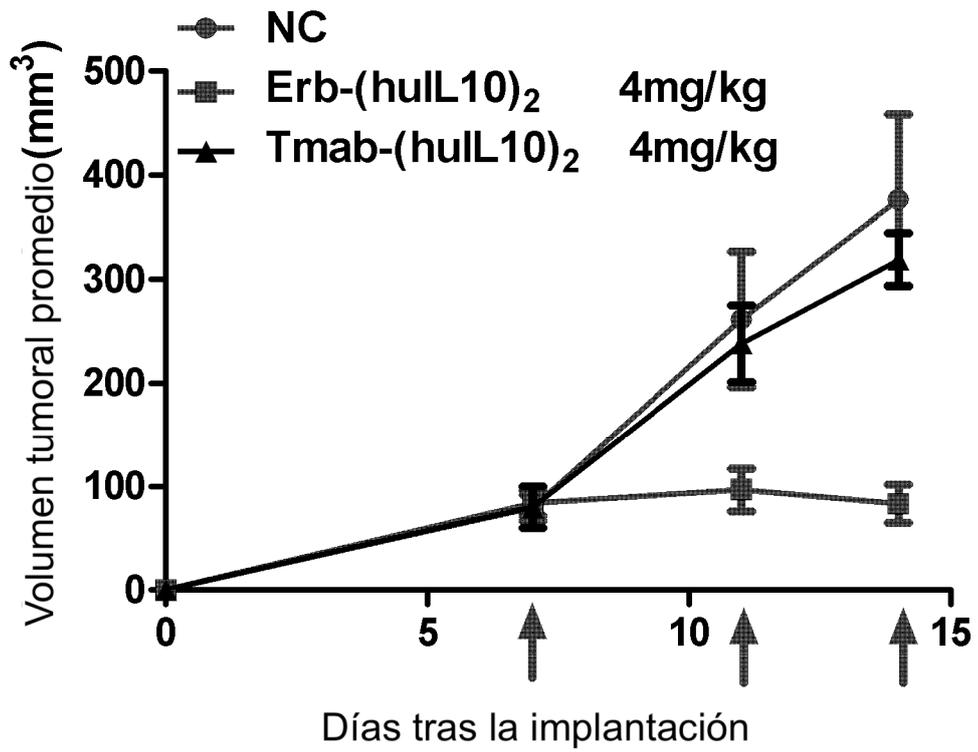


FIG. 31