



No. 11-179822-00000-0000

Fecha: 2011-12-28 08:45:13 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 238



Industria y Comercio

S U P E R I N T E N D E N C I A

DELEGATURA DE PROPIEDAD INDUSTRIAL

División de Nuevas Creaciones

**SOLICITUD
PATENTE DE INVENCION**

21. **EXPEDIENTE No.** _____

54. **TÍTULO** ANTICUERPOS ANTI-VEGF Y SUS USOS

51. **CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL** C07K 16/22; A61P 35/00
A61K 39/395; C12N 15/13; C12N 15/63; A61K 47/48; A61P 37/00

71. **SOLICITANTE** ABBOTT BIOTHERAPEUTICS CORP.

DOMICILIO REDWOOD CITY, ESTADO DE CALIFORNIA, E.U.A.

74. **APODERADO** GERMAN CASTILLO GRAU

22. **BOGOTÁ, D.C.,** _____

PETITORIO

**Industria y Comercio**
SUPERINTENDENCIA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 11-179622- -00000-0000

Fecha: 2011-12-28 08:45:13 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Evg: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 238

de radicación

1

FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUDES DE PATENTES

PCT

ENTRADA EN FASE NACIONAL

SOLICITUD DE:

1

☒ Patente de Invención☐ Patente de Modelo de Utilidad☒ Capítulo I☐ Capítulo II

SOLICITANTE

Nombre: **ABBOTT BIOTHERAPEUTICS CORP.**

Dirección: 1500 Seaport Blvd

Nacionalidad o Domicilio: Redwood City, Estado de California, E.U.A.

Lugar de Constitución: E.U.A.

Teléfono:

Fax:

E- mail:

IDENTIFICACION

☐ C.C.☐ NIT☐ C.E.☐ Otro

Cual

Número

3

REPRESENTANTE O APODERADO

Nombre: GERMAN CASTILLO GRAU

Dirección: Carrera 13 No. 37 - 43 Piso 12

Teléfono: 285 7460

Fax: 285 9267

E- mail: info@castillograu.com

IDENTIFICACIÓN

☒ C.C.☐ NIT☐ C.E.☐ Otro

Cual

Número

17.017.671

TF 2.978

de Bogotá

del C.S.J

4

INVENTOR (ES)

(72)

Nombre: Fiona Harding; Yoshiko Akamatsu; Robert B. Dubridge; David B. Powers

Dirección: 772 Lewis Street; 514 Driscoll Place; 825 Holly Road; 77 Live Oak Avenue

Nacionalidad o Domicilio: Santa Clara, Palo Alto, Belmont, Fairfax - Estado de California, E.U.A.

5

PCT (86)

Solicitud Internacional No. PCT/US2010/039029

Fecha Junio 17, 2010

Publicación Internacional No. WO 2010/148223 A3

Fecha Diciembre 23, 2010

6

Título (54) ANTICUERPOS ANTI-VEGF Y SUS USOS

7

Clasificación Internacional (51)

C07K 16/22; A61P 35/00; A61K 39/395; C12N 15/13; C12N 15/63
A61K 47/48; A61P 37/00

8

Prioridad

☒ SI ☐ NO

(33) País de Origen

E.U.A.

(32) Fecha

Junio 17, 2009

(31) Número de Solicitud

61/218,005

9

Comprobante de pago No.

125,974

Fecha

Instrucciones para el diligenciamiento del presente formulario, ver reverso de esta página

 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA	EXTRACTO PARA PUBLICACIÓN ☒ Patente de Invención ☐ Patente modelo de utilidad ☐ PCT			
(21) No. De solicitud	(51) int. Cl: C07K 16/22; A61P 35/00; A61K 39/395; C12N 15/13; C12N 15/63; A61K 47/48; A61P 37/00			
(22) Fecha de solicitud	(71) Solicitante (s) ABBOTT BIOTHERAPEUTICS CORP.			
(30) Prioridad (31) No. Prioridad 61/218,005 (32) Fecha: Junio 17, 2009 (33) Pais E.U.A.	(72) Interventor (es) Fiona Harding; Yoshiko Akamatsu; Robert B. Dubridge; David B. Powers			
	(74) Apoderado (s) GERMAN CASTILLO GRAU			
(54) Título ANTICUERPOS ANTI-VEGF Y SUS USOS				
Las casillas identificadas con 85, 86 y 87 sólo aplican para PCT				
(85) Fecha límite inicio Fase Nacional (86) Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT Fecha de presentación de la solicitud Fecha Junio 17, 2010 No. de solicitud PCT PCT/US2010/039029		(87) Publicación internacional Fecha Fecha (Diciembre 23, 2010) No. Publicación WO 2010/148223 A3		
Resumen reivindicación (es): La presente divulgación se refiere a anticuerpos dirigidos al factor de crecimiento endotelial vascular ("VEGF") y usos de estos anticuerpos, por ejemplo para tratar enfermedades asociadas con la actividad y/o sobreproducción de VEGF				

10

Anexos

☒

Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud.

☐

Documento que acredite la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.

☐

Poderes, si fuere el caso.

☐

Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante.

☒

Traducción de la solicitud internacional al castellano (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)

☐

Copia del examen preliminar internacional efectuado por la Autoridad Internacional de Examen preliminar (IPEA)

☐

Traducción de examen preliminar internacional efectuado por la (IPEA)

☐

De ser el caso, copia del contrato de acceso.

☐

De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.

☐

De ser el caso, certificado de depósito del material biológico

☒

Arte final 12x12.

☐

De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.

☐

De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional.

☐

Otros

11

FIGURA CARACTERÍSTICA:

Cadena del anticuerpo	CDR N°	Residuo	Posición en CDR	N° de Kabat
Liviana	1	S	1	24
		A	2	25
		S	3	26
		Q	4	27
		D	5	28
		I	6	29
		S	7	30
		N	8	31
		Y	9	32
		L	10	33
		N	11	34
Liviana	2	F	1	50
		T	2	51
		S	3	52
		S	4	53
		L	5	54
		H	6	55
		S	7	56
Liviana	3	Q	1	89
		Q	2	90
		Y	3	91
		S	4	92
		T	5	93
		V	6	94
		P	7	95
		W	8	96
		T	9	97

TABLA 2

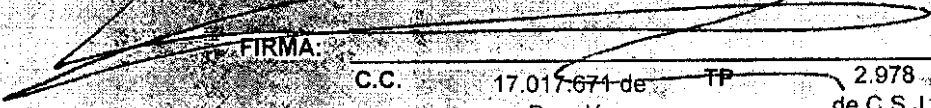
12

Solicito la concesión de la patente.

NOMBRE:

GERMAN CASTILLO GRAU

FIRMA:



C.C.

17.017.674 de

TP

2.978

Bogotá

de C.S.J.

ANTICUERPOS ANTI-VEGF Y SUS USOS

1. REFERENCIA CRUZADA A SOLICITUDES RELACIONADAS Y LISTADO DE SECUENCIAS

Esta solicitud reclama el beneficio bajo 35 U.S.C. § 119(e) de la solicitud provisional norteamericana US N° 61/218.005, presentada el 17 de junio de 2009, cuyos contenidos se incorporan aquí por referencia en su totalidad.

La presente solicitud contiene un listado de secuencias que ha sido presentado vía EFS-Web y se incorpora aquí por referencia en su totalidad. Dicha copia ASCII, creada el 15 de junio de 2010, se denomina 381493PC.txt y tiene un tamaño de 141.482 bytes.

2. CAMPO DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a anticuerpos anti-VEGF, a composiciones farmacéuticas que comprenden anticuerpos anti-VEGF, y a usos terapéuticos de estos anticuerpos.

3. ANTECEDENTES

La angiogénesis ha surgido como un blanco terapéutico atractivo debido a que está implicada en una variedad de condiciones patológicas, incluyendo el crecimiento tumoral, retinopatías proliferativas, degeneración macular relacionada con la edad, artritis reumatoide (AR) y psoriasis (Folkman *et al.*, 1992, J. Biol. Chem. 267:10931-10934). La primera indicación de factores angiogénicos moleculares específicos se basó en la observación de la potente respuesta neovascular inducida por los tumores trasplantados. Se sabe ahora que la angiogénesis es esencial para el crecimiento de la mayoría de los tumores primarios y su metástasis subsiguiente. Desde entonces, numerosas moléculas han sido asociadas con la regulación positiva de la angiogénesis, incluyendo el factor de crecimiento transformante (TGF)- α , TGF- β , factor de crecimiento de hepatocitos (HGF), factor de necrosis tumoral α , angiogenina, interleuquina (IL)-8 y factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF, también denominado

VEGFA o factor de permeabilidad vascular (VPF)) (Ferrara *et al.*, 2003, Nature Medicine 9:669-676).

Las proteínas VEGF son proteínas de señalización importantes involucradas tanto en la vasculogénesis embrionaria normal (la formación *de novo* del sistema circulatorio embrionario) como en la angiogénesis anormal (el crecimiento de vasos sanguíneos a partir de vasculatura pre-existente) (Ferrara *et al.*, 1996, Nature 380:439-442; Dvorak *et al.*, 1995, Am. J. Pathol. 146:1029-1039). VEGF está asociado con tumores sólidos y malignidades hematológicas, síndromes neovasculares interoculares, inflamación y edema cerebral, y patología del tracto reproductivo femenino (Ferrara *et al.*, 2003, Nature Medicine 9:669-676). El ARNm de VEGF está sobre-expresado en muchos tumores humanos, incluyendo los de pulmón, mama, tracto gastrointestinal, riñón, páncreas y ovario (Berkman *et al.*, 1993, J. Clin. Invest. 91:153-159). Los aumentos de VEGF en el humor acuoso y vítreo de los ojos han sido asociados con diversas retinopatías (Aiello *et al.*, 1994, N. Engl. J. Med. 331:1480-1487). La degeneración macular relacionada con la edad (DME), una causa importante de pérdida de visión en las personas de edad avanzada, se debe a la neovascularización y filtración vascular. Se ha demostrado la localización de VEGF en las membranas neovasculares coroidales en pacientes afectados por DME (Lopez *et al.*, 1996, Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 37:855-868).

La familia de los genes de VEGF incluye el miembro prototípico VEGFA, al igual que VEGFB, VEGFC, VEGFD, y el factor de crecimiento placentario (PLGF). El gen de VEGFA humano está organizado como ocho exones separados por siete intrones. Existen al menos seis isoformas diferentes de VEGF, VEGF₁₂₁, VEGF₁₄₅, VEGF₁₆₂, VEGF₁₆₅, VEGF_{165b}, VEGF₁₈₃, VEGF₁₈₉ y VEGF₂₀₆, donde los subíndices se refieren al número de amino ácidos restantes después de la escisión de la señal ("signal cleavage"). VEGF nativo es una glicoproteína homodimérica de 45 kDa que se une a heparina (Ferrara *et al.*, 2003, Nature Medicine 9:669-676). VEGF (específicamente VEGFA) se une a dos receptores tirosina quinasas relacionados, VEGFR-1 (también denominado Flt-1) y VEGFR-2 (también denominado Flk-1 o región de dominio de quinasa (KDR) o CD309). Cada receptor tiene siete regiones extracelulares y una región transmembrana. VEGF también se une a las neuropilinas NRP1 (también

denominada receptor del factor de crecimiento de células endoteliales vasculares 165 (VEGF165R) o CD304) y NRP2 (también denominada receptor 2 del factor de crecimiento de células endoteliales vasculares 165 (VEGF165R2)).

Dado su papel fundamental en la regulación de la angiogénesis, VEGF proporciona un blanco atractivo para la intervención terapéutica. De hecho, una variedad de estrategias terapéuticas que apuntan a bloquear a VEGF o su sistema de señalización de receptores están siendo desarrolladas actualmente para el tratamiento de enfermedades neoplásicas. El anticuerpo anti-VEGF bevacizumab, también denominado rhuMAb VEGF o Avastin®, es un anticuerpo monoclonal anti-VEGF humanizado recombinante, creado y comercializado por Genentech (Presta *et al.*, 1997, Cancer Res. 57:4593-4599). Para construir bevacizumab, las regiones determinantes de complementariedad (CDRs) del anticuerpo monoclonal anti-VEGF de murino A.4.6.1 fueron injertadas en armazones humanos y una región constante de IgG. Enseguida se introdujeron en la molécula mutaciones adicionales fuera de las CDRs para mejorar la unión, proporcionando un anticuerpo en el cual ~93% de la secuencia de amino ácidos es derivada de IgG₁ humana y ~7% de la secuencia es derivada del anticuerpo de murino A.4.6.1. Bevacizumab tiene una masa molecular de alrededor de 149.000 Daltons y es glicosilado.

Ranibizumab es un fragmento Fab con la afinidad madurada derivado de bevacizumab. Ranibizumab tiene una afinidad más alta por VEGF y también es de tamaño más pequeño, lo que le permite atravesar mejor la retina y así tratar la neovascularización ocular asociada con DME (Lien and Lowman, En: Chernajovsky, 2008, Therapeutic Antibodies. Handbook of Experimental Pharmacology 181, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg 131-150). Ranibizumab fue desarrollado y es comercializado por Genentech bajo el nombre comercial Lucentis®.

El tratamiento de pacientes de cáncer con un régimen que incluye Avastin® puede dar como resultado efectos secundarios incluyendo hipertensión, proteinuria, eventos tromboembólicos, sangrado y toxicidad cardíaca (Blowers & Hall, 2009, Br. J. Nurs. 18(6):351-6, 358). También, a pesar de ser un anticuerpo humanizado, bevacizumab puede provocar una

respuesta inmune cuando se administra a seres humanos. Esta respuesta inmune puede dar como resultado una eliminación mediada por complejo inmune de los anticuerpos o fragmentos desde la circulación, y hacer que la administración repetida sea inconveniente para la terapia, reduciendo así el beneficio terapéutico para el paciente y limitando la readministración del anticuerpo.

En consecuencia, existe una necesidad de proporcionar anticuerpos o fragmentos anti-VEGF mejorados que superen uno o más de estos problemas, por ejemplo, generando variantes con una afinidad más alta que bevacizumab que puedan ser administradas a dosis reducidas, o variantes con inmunogenicidad y otros efectos secundarios reducidos en comparación con bevacizumab.

La cita o identificación de cualquier referencia en la Sección 3 o en cualquier otra sección de esta solicitud no debe interpretarse como un reconocimiento de que esta referencia está disponible como arte previo para la presente divulgación.

4. RESUMEN

La presente divulgación se refiere a variantes del anticuerpo anti-VEGF bevacizumab con inmunogenicidad reducida y/o afinidad mejorada hacia VEGF, en comparación con bevacizumab o ranibizumab. Bevacizumab tiene tres CDRs de la cadena pesada, denominadas aquí (en orden desde el terminal amino al carboxi) CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3, y tres CDRs de la cadena liviana, denominadas aquí (en orden desde el terminal amino al carboxi) CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3. Las secuencias de las CDRs de bevacizumab se muestran en las Figuras 1A y 1B, y su numeración se presenta en la Tabla 1 (para las CDRs de la cadena pesada) y la Tabla 2 (para las CDRs de la cadena liviana). Un anticuerpo relacionado, ranibizumab, fue generado por maduración de la afinidad de bevacizumab. Ranibizumab tiene las secuencias de CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3 y CDR-H2 idénticas a bevacizumab, pero varía en sus secuencias de CDR-H1 y CDR-H3 de las de bevacizumab. Las secuencias de las cadenas pesada y liviana de ranibizumab se muestran en la Figura 1C, y las CDRs se presentan en la Figura 1D.

Los anticuerpos de la divulgación generalmente tienen al menos una sustitución de amino ácido en al menos una CDR de la cadena pesada en comparación con bevacizumab y ranibizumab.

En ciertos aspectos, los anticuerpos anti-VEGF incluyen al menos una sustitución en comparación con bevacizumab o ranibizumab, seleccionada entre N31F en CDR-H1; K64S en CDR-H2; K64Q en CDR-H2; Y53F en CDR-H2; H97E en CDR-H3; H97D en CDR-H3; H97P en CDR-H3; Y98F en CDR-H3; Y99E en CDR-H3; Y99D en CDR-H3; S100aG en CDR-H3, y T51A en CDR-L2. En otros aspectos, los anticuerpos anti-VEGF incluyen al menos una sustitución seleccionada de las Tablas 8 y 9. Mutaciones adicionales que pueden ser incorporadas en los anticuerpos variantes con afinidad mejorada pueden ser sustituciones desinmunizantes candidatas, tales como las descritas en la Tabla 6, y también otras mutaciones, por ejemplo sustituciones, que no destruyen la capacidad de los anticuerpos para unirse a VEGF, incluyendo pero no limitadas a las mutaciones descritas en las Tablas 10 y 11, o mutaciones conocidas, tales como las mutaciones descritas en las Tablas 12-1 a 12-9 y 13. Otras mutaciones que pueden ser incorporadas incluyen, pero no están limitadas a, las mutaciones descritas en las Tablas 14-16.

En modalidades específicas, los anticuerpos anti-VEGF de la divulgación incluyen una combinación de sustituciones seleccionada de la Tabla 7, y opcionalmente una o más mutaciones adicionales, por ejemplo sustituciones desinmunizantes candidatas tales como las descritas en la Tabla 6, y también otras mutaciones, por ejemplo sustituciones, que no destruyen la capacidad de los anticuerpos para unirse a VEGF, incluyendo pero no limitadas a las mutaciones descritas en las Tablas 10 y 11, o mutaciones conocidas, tales como las mutaciones descritas en las Tablas 12-1 a 12-9 y 13. Otras mutaciones que pueden ser incorporadas en los anticuerpos anti-VEGF de la divulgación incluyen, pero no están limitadas a, las mutaciones descritas en las Tablas 14-16.

En otras modalidades, los anticuerpos anti-VEGF de la divulgación incluyen una o más de las siguientes sustituciones en las CDRs: K64S (CDR-H2), K64Q (CDR-H2), Y53F y K64Q (CDR-H2), H97E e Y98F (CDR-H3), o T51A (CDR-L2). Los anticuerpos anti-VEGF

también pueden incluir opcionalmente una o más mutaciones o combinaciones de mutaciones adicionales seleccionadas de una o más de las Tablas 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12-1 a 12-9 ó 13-16.

Otras sustituciones en las CDRs pueden incluir N31F (CDR-H1), H97E (CDR-H3), H97D (CDR-H3), H97P (CDR-H3), Y99E (CDR-H3), Y99D (CDR-H3), S100aG (CDR-H3) donde la posición 3 en CDR-H3 opcionalmente no es tirosina, T28P, N31F, N31G y N31M (CDR-H1), H97A, H97Q, H97S, H97T, S100aD, S100aE y S100Av (CDR-H3), T30W, T30R o T30Q (CDR-H1), Y53F, T58F, A61G, A61K, A61R, A61H, A61Y, K64G, K64E, R65L, R65T, R65A, R65E y R65D (CDR-H2), e Y98F e Y100eF (CDR-H3). Las CDRs opcionalmente contienen una o más mutaciones o combinaciones de mutaciones adicionales seleccionadas de una o más de las Tablas 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12-1 a 12-9 y 13.

Otras sustituciones pueden incluir sustituciones en las CDRs de la cadena pesada, incluyendo una combinación de sustituciones seleccionada entre: (a) N31F en CDR-H1, H97D en CDR-H3, Y99D en CDR-H3, y S100aG en CDR-H3; (b) N31F en CDR-H1, H97P en CDR-H3, Y99D en CDR-H3, y S100aG en CDR-H3; (c) N31F en CDR-H1, H97P en CDR-H3, e Y99E en CDR-H3; (d) N31F en CDR-H1, H97E en CDR-H3, e Y99E en CDR-H3; (e) N31F en CDR-H1, H97D en CDR-H3, e Y99E en CDR-H3; (f) N31F en CDR-H1, H97E en CDR-H3, Y99D en CDR-H3, y S100aG en CDR-H3; (g) N31F en CDR-H1, Y99D en CDR-H3, y S100aG en CDR-H3; (h) N31F en CDR-H1, H97P en CDR-H3, e Y99D en CDR-H3; (i) N31F en CDR-H1, H97D en CDR-H3, y S100aG en CDR-H3; (j) N31F en CDR-H1 y S100aG en CDR-H3; o (k) N31F en CDR-H1, H97P en CDR-H3, y S100aG en CDR-H3. Otras sustituciones opcionales pueden incluir una o más mutaciones o combinaciones de mutaciones adicionales seleccionadas de una o más de las Tablas 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12-1 a 12-9 y 13.

Otras sustituciones en la cadena pesada pueden incluir al menos una sustitución seleccionada entre A61F en CDR-H2, A61E en CDR-H2, A61D en CDR-H2, D62L en CDR-H2, D62G en CDR-H2, D62Q en CDR-H2, D62T en CDR-H2, D62K en CDR-H2, D62R en CDR-H2, D62E en CDR-H2, D62H en CDR-H2, K64S en CDR-H2, K64V en CDR-H2, K64Q en CDR-H2, R65V en CDR-H2, R65F en CDR-H2, R65H en CDR-H2, R65N en CDR-H2, R65S en CDR-H2, R65Q en CDR-H2, R65K en CDR-H2, R65I en CDR-H2, e Y98H en CDR-H3.

Opcionalmente, pueden incluirse una o más mutaciones o combinaciones de mutaciones adicionales seleccionadas de una o más de las Tablas 7, 8, 9, 10, 11, 12-1 a 12-9 y 13.

En ciertos aspectos, los anticuerpos de la divulgación tienen secuencias de VH y VL que tienen al menos 80% de identidad de secuencia (y en ciertas modalidades, al menos 85%, al menos 90%, al menos 95%, al menos 98% o al menos 99% de identidad de secuencia) con las secuencias de VH y VL de bevacizumab o ranibizumab, e incluyen al menos una sustitución de amino ácido en al menos una CDR en comparación con bevacizumab o ranibizumab. En otros aspectos, los anticuerpos de la divulgación tienen secuencias de VH y VL que tienen al menos 80% de identidad de secuencia (y en ciertas modalidades, al menos 85%, al menos 90%, al menos 95%, al menos 98% o al menos 99% de identidad de secuencia) con las secuencias de VH y VL de bevacizumab o ranibizumab, e incluyen al menos una sustitución de amino ácido en al menos una región de armazón en comparación con bevacizumab o ranibizumab. En modalidades específicas, el porcentaje de identidad de secuencia para la cadena pesada y la cadena liviana en comparación con las secuencias de VH y VL de bevacizumab o ranibizumab se selecciona independientemente entre al menos 80%, al menos 85%, al menos 90%, al menos 95% de identidad de secuencia, o al menos 99% de identidad de secuencia. En ciertos aspectos, los anticuerpos de la divulgación tienen secuencias de VH y/o VL que tienen al menos 95%, al menos 98% o al menos 99% de identidad de secuencia con las secuencias de VH y/o VL de bevacizumab o ranibizumab.

En ciertos aspectos, los anticuerpos de la divulgación tienen hasta 17 sustituciones de amino ácidos en sus CDRs en comparación con bevacizumab o ranibizumab. Anticuerpos variantes con 17 sustituciones de amino ácidos que mantienen su capacidad de unión al blanco han sido generados por Bostrom *et al.*, 2009, Science 323:1610-14.

En modalidades específicas, un anticuerpo anti-VEGF de la divulgación tiene, independientemente:

- hasta una, hasta dos, hasta tres, hasta cuatro, hasta cinco, hasta seis, hasta siete, hasta ocho, hasta nueve o hasta diez sustituciones en CDR-H1 en comparación con la CDR correspondiente de bevacizumab o de ranibizumab;

- hasta una, hasta dos, hasta tres, hasta cuatro, hasta cinco, hasta seis, hasta siete, hasta ocho, hasta nueve, hasta diez, hasta once, hasta doce, hasta trece, hasta catorce, hasta quince, hasta dieciséis o hasta diecisiete sustituciones en CDR-H2 en comparación con la CDR correspondiente de bevacizumab o de ranibizumab;
- hasta una, hasta dos, hasta tres, hasta cuatro, hasta cinco, hasta seis, hasta siete, hasta ocho, hasta nueve, hasta diez, hasta once, hasta doce, hasta trece o hasta catorce sustituciones en CDR-H3 en comparación con la CDR correspondiente de bevacizumab o de ranibizumab;
- hasta una, hasta dos, hasta tres, hasta cuatro, hasta cinco, hasta seis, hasta siete, hasta ocho, hasta nueve, hasta diez o hasta once sustituciones en CDR-L1 en comparación con la CDR correspondiente de bevacizumab o de ranibizumab;
- hasta una, hasta dos, hasta tres, hasta cuatro, hasta cinco, hasta seis o hasta siete sustituciones en CDR-L2 en comparación con la CDR correspondiente de bevacizumab o de ranibizumab; y
- hasta una, hasta dos, hasta tres, hasta cuatro, hasta cinco, hasta seis, hasta siete, hasta ocho o hasta nueve sustituciones en CDR-L3 en comparación con la CDR correspondiente de bevacizumab o de ranibizumab.

La presente divulgación proporciona además composiciones farmacéuticas que comprenden anticuerpos anti-VEGF modificados. En algunos aspectos, las composiciones farmacéuticas tienen afinidad aumentada por VEGF y/o inmunogenicidad reducida en comparación con bevacizumab o ranibizumab.

Se proporcionan aquí ácidos nucleicos que comprenden secuencias nucleotídicas que codifican los anticuerpos anti-VEGF de la divulgación, y también vectores que comprenden los ácidos nucleicos. Adicionalmente, se proporcionan aquí células huésped procarióticas y eucarióticas transformadas con un vector que comprende una secuencia nucleotídica que codifica un anticuerpo anti-VEGF, y también células huésped eucarióticas (tales como de mamíferos) modificadas por ingeniería genética para expresar las secuencias nucleotídicas. También se

proporcionan métodos para producir anticuerpos anti-VEGF mediante el cultivo de células huésped.

Los anticuerpos anti-VEGF de la divulgación son útiles en el tratamiento de cánceres (por ejemplo, carcinoma de colon, carcinoma rectal, cáncer de pulmón de células no pequeñas y cáncer de mama), enfermedades retinianas (por ejemplo, degeneración macular relacionada con la edad ("DME")) y trastornos inmunes (por ejemplo, artritis reumatoide).

En ciertos aspectos, los anticuerpos anti-VEGF de la divulgación pueden usarse en dosificaciones reducidas en comparación con bevacizumab o ranibizumab, por ejemplo dosificaciones al menos 10%, al menos 20%, al menos 30%, al menos 40%, al menos 50%, al menos 60%, al menos 70%, al menos 80% o al menos 90% más bajas.

Debe hacerse notar que los artículos indefinidos "un" y "una" y los artículos definidos "el" y "la" se usan en la presente solicitud, como es común en solicitudes de patentes, para indicar uno o más, a menos que el contexto claramente señale otra cosa. Además, el término "o" se usa en la presente solicitud, como es común en solicitudes de patentes, para indicar la conjunción disyuntiva "o" o la copulativa "y".

Todas las publicaciones mencionadas en esta memoria se incorporan aquí por referencia. Cualquier discusión de documentos, actas, materiales, dispositivos, artículos o similares que haya sido incluida en esta memoria es únicamente con el propósito de proporcionar un contexto para la presente divulgación. No debe tomarse como un reconocimiento de que cualquiera o todas estas materias forman parte de la base del arte previo o eran de conocimiento general común en el campo relevante a la presente divulgación que existía en cualquier lugar antes de la fecha de prioridad de esta solicitud.

Las características y ventajas de la divulgación serán más evidentes con la siguiente descripción detallada de sus modalidades.

5. BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS TABLAS Y FIGURAS

La Tabla 1 muestra la numeración de los amino ácidos en las CDRs de la cadena pesada de bevacizumab. Las CDRs 1-3 se divulgan como SEQ ID NOS:3-5, respectivamente.

La Tabla 2 muestra la numeración de los amino ácidos en las CDRs de la cadena liviana de bevacizumab. Las CDRs 1-3 se divulgan como SEQ ID NOS:6-8, respectivamente.

La Tabla 3 muestra péptidos de VL de bevacizumab que fueron analizados en cuanto a inmunogenicidad.

La Tabla 4 muestra péptidos de VH de bevacizumab que fueron analizados en cuanto a inmunogenicidad.

La Tabla 5 muestra regiones de epítomos de células T CD4⁺ identificadas en bevacizumab. Las regiones CDR están subrayadas.

La Tabla 6 muestra mutaciones candidatas en CDR-H2 y CDR-H3 para disminuir la inmunogenicidad de bevacizumab. La numeración de los amino ácidos en la Tabla 6 corresponde a la numeración de Kabat en la cadena pesada de bevacizumab.

La Tabla 7 muestra sustituciones de amino ácidos en las CDRs de la cadena pesada de bevacizumab que dan como resultado una K_D mejorada, analizada por resonancia de plasmón de superficie. Δk_{on} se refiere a las veces que mejoró k_{on} (mutante/WT). Δk_{off} se refiere a las veces que mejoró k_{off} (WT/mutante). ΔK_D se refiere a la mejora en la K_D en el mutante con respecto al tipo silvestre. La numeración de los amino ácidos en la Tabla 7 corresponde a la numeración de Kabat en la cadena pesada de bevacizumab.

La Tabla 8 muestra mutaciones en las CDRs de la cadena pesada de bevacizumab que, según indican los estudios de unión preliminares, aumentan la afinidad por VEGF (datos no mostrados). La numeración de los amino ácidos en la Tabla 8 corresponde a la numeración de Kabat en la cadena pesada de bevacizumab.

La Tabla 9 muestra mutaciones en las CDRs de la cadena pesada de bevacizumab que, según indican los estudios preliminares, aumentan la afinidad por VEGF (datos no mostrados). La numeración de los amino ácidos en la Tabla 9 corresponde a la numeración de Kabat en la cadena pesada de bevacizumab.

La Tabla 10 muestra mutaciones en las CDRs de la cadena pesada de bevacizumab que no tienen ningún impacto en la unión y pueden incorporarse en los anticuerpos de la

divulgación. La numeración de los amino ácidos en la Tabla 10 corresponde a la numeración de Kabat en la cadena pesada de bevacizumab.

La Tabla 11 muestra mutaciones en las CDRs de la cadena liviana de bevacizumab que no tienen ningún impacto en la unión y pueden incorporarse en los anticuerpos de la divulgación. La numeración de los amino ácidos en la Tabla 11 corresponde a la numeración de Kabat en la cadena liviana de bevacizumab.

Las Tablas 12-1 a 12-9 muestran mutaciones conocidas en las CDRs de la cadena pesada de bevacizumab que pueden incorporarse en los anticuerpos de la divulgación. Cada fila en las Tablas 12-1 a 12-9 incluye una variante conocida definida. Para cada variante, las secuencias de CDRs conocidas están sombreadas. Los identificadores de secuencia para cada variante identificada en las Tablas 12-1 a 12-9 se presentan en las Tablas 20-1 a 20-9, respectivamente. La columna de CDR-H1 proporciona una secuencia parcial de CDR-H1. La asparagina final de CDR-H1 no se muestra. Esta secuencia parcial corresponde a SEQ ID NO:411. A pesar de que mutaciones conocidas en CDR-H1 se muestran en el contexto de esta secuencia parcial, se hace notar que las mutaciones existen en el contexto de la CDR de longitud completa.

La Tabla 13 muestra mutaciones conocidas en las CDRs de la cadena liviana de bevacizumab que pueden incorporarse en los anticuerpos de la divulgación. Cada fila en la Tabla 13 incluye una variante conocida definida. Para cada variante, las secuencias de CDRs conocidas están sombreadas. Los identificadores de secuencia para cada variante identificada en la Tabla 13 se presentan en la Tabla 20-10.

La Tabla 14 muestra péptidos de CDR2 de VH de bevacizumab que fueron analizados en cuanto a inmunogenicidad, donde los residuos no cambiados con respecto a SEQ ID NO:62 se indican mediante una celda en blanco. También se proporcionan los resultados del ensayo de células T CD4+.

La Tabla 15 muestra péptidos de CDR3 de VH de bevacizumab que fueron analizados en cuanto a inmunogenicidad, donde los residuos no cambiados con respecto a SEQ

ID NO:74 se indican mediante una celda en blanco. También se proporcionan los resultados del ensayo de células T CD4+.

La Tabla 16 muestra péptidos de CDR2 de VL de bevacizumab que fueron analizados en cuanto a inmunogenicidad, donde los residuos no cambiados con respecto a SEQ ID NO:25 se indican mediante una celda en blanco. También se proporcionan los resultados del ensayo de células T CD4+.

La Tabla 17 muestra modificaciones de epítopos seleccionadas para los tres epítopos de células T CD4+ en bevacizumab.

La Tabla 18 muestra mutantes simples de la región variable y su puntaje asociado de intensidad media de fluorescencia (MFI).

La Tabla 19 muestra mutantes combinados de la región variable y su EC₅₀ asociada.

Las Tablas 20-1 a 20-10 muestran los SEQ ID NOS, cuando se conocen, correspondientes a las CDRs de las variantes de bevacizumab presentadas en las Tablas 12-1 a 12-9 y la Tabla 13, respectivamente. N/A indica una secuencia de CDR desconocida.

Figuras 1A-1D. La Figura 1A muestra las secuencias de amino ácidos de las regiones variables de las cadenas pesada y liviana de bevacizumab, SEQ ID NO:1 y SEQ ID NO:2, respectivamente, con las regiones CDR en texto en **negrita y subrayado**. La Figura 1B muestra las secuencias de las CDRs y los identificadores de secuencia correspondientes de bevacizumab. La Figura 1C muestra las secuencias de amino ácidos de las cadenas pesada y liviana de ranibizumab, SEQ ID NO:9 y SEQ ID NO:10, respectivamente, con las regiones CDR en texto en **negrita y subrayado**. La Figura 1D muestra las secuencias de las CDRs y los identificadores de secuencia correspondientes de ranibizumab.

Las Figuras 2A-2B muestran las respuestas a los péptidos de VL de bevacizumab. La Figura 2A muestra el porcentaje de respuestas de los donantes a cada péptido de VL con un índice de estimulación de 2,95 o más. N = 99 donantes. La Figura 2B muestra el índice de estimulación promedio para los 99 donantes para cada péptido más o menos el error estándar.

Las Figuras 3A-3B muestran las respuestas a los péptidos de VH de bevacizumab. La Figura 3A muestra el porcentaje de respuestas de los donantes a cada péptido de VH con un índice de estimulación de 2,95 o más. N = 99 donantes. La Figura 3B muestra el índice de estimulación promedio para los 99 donantes para cada péptido más o menos el error estándar.

Las Figuras 4A-4C muestran respuestas de células T CD4+ a péptidos epítomos de bevacizumab mutantes. El promedio de las respuestas a las secuencias de los epítomos padres no modificadas se indican con rombos huecos. Los círculos grandes indican cambios seleccionados mencionados en la Tabla 17. La Figura 4A está dirigida a péptidos de CDR2 de VH; la Figura 4B está dirigida a péptidos de CDR3 de VH; y la Figura 4C está dirigida a péptidos de CDR2 de VL.

6. DESCRIPCIÓN DETALLADA

6.1 ANTICUERPOS ANTI-VEGF

La presente divulgación proporciona anticuerpos anti-VEGF. A menos que se indique otra cosa, el término "anticuerpo" (Ab) se refiere a una molécula de inmunoglobulina que se une específicamente a, o es inmunológicamente reactiva con, un antígeno particular, e incluye anticuerpos policlonales, monoclonales, modificados por ingeniería genética y formas de anticuerpos modificadas de otra manera, incluyendo pero no limitadas a, anticuerpos quiméricos, anticuerpos humanizados, anticuerpos heteroconjugados (por ejemplo, anticuerpos biespecíficos, diacuerpos, triacuerpos y tetracuerpos) y fragmentos de unión al antígeno de anticuerpos, incluyendo por ejemplo fragmentos Fab', F(ab')₂, Fab, Fv, rIgG y scFv. Más aún, a menos que se indique otra cosa, el término "anticuerpo monoclonal" (mAb) pretende incluir tanto moléculas intactas como fragmentos de anticuerpos (por ejemplo, fragmentos Fab y F(ab')₂) que son capaces de unirse específicamente a una proteína. Los fragmentos Fab y F(ab')₂ carecen del fragmento Fc del anticuerpo intacto, se eliminan más rápido de la circulación del animal, y pueden tener menos unión no específica a tejidos que un anticuerpo intacto (Wahl *et al.*, 1983, J. Nucl. Med. 24:316).

El término "scFv" se refiere a un anticuerpo Fv de una sola cadena en el cual los dominios variables de la cadena pesada y la cadena liviana de un anticuerpo tradicional han sido unidos para formar una cadena.

Las referencias a "VH" se refieren a la región variable de una cadena pesada de inmunoglobulina de un anticuerpo, incluyendo la cadena pesada de un Fv, scFv o Fab. Las referencias a "VL" se refieren a la región variable de una cadena liviana de inmunoglobulina, incluyendo la cadena liviana de un Fv, scFv, dsFv o Fab. Los anticuerpos (Abs) y las inmunoglobulinas (Igs) son glicoproteínas que tienen las mismas características estructurales. Mientras los anticuerpos exhiben especificidad de unión a un blanco específico, las inmunoglobulinas incluyen tanto anticuerpos como otras moléculas similares a anticuerpos que carecen de especificidad para un blanco. Los anticuerpos e inmunoglobulinas, nativos, habitualmente son glicoproteínas heterotetraméricas de alrededor de 150.000 Daltons, compuestas de dos cadenas livianas (L) idénticas y dos cadenas pesadas (H) idénticas. Cada cadena pesada tiene en el terminal amino un dominio variable (VH) seguido por un número de dominios constantes. Cada cadena liviana tiene un dominio variable (VL) en el terminal amino y un dominio constante en el terminal carboxi.

Los anticuerpos anti-VEGF de la divulgación se unen a VEGF humano e inhiben la actividad del receptor de VEGF en una célula.

Los anticuerpos anti-VEGF de la divulgación contienen regiones determinantes de complementariedad (CDRs) que están relacionadas en secuencia con las CDRs del anticuerpo bevacizumab (también conocido como Avastin®) y/o ranibizumab (también conocido como Lucentis®).

Las CDRs también se conocen como regiones hipervariables en los dominios variables tanto de la cadena liviana como de la cadena pesada. Las porciones más altamente conservadas de los dominios variables se denominan armazón (FR). Como es conocido en el arte, la posición de amino ácido/límite que demarca una región hipervariable de un anticuerpo puede variar, dependiendo del contexto y de las diversas definiciones conocidas en el arte. Algunas posiciones dentro de un dominio variable pueden verse como posiciones hipervariables

híbridas, porque estas posiciones pueden considerarse como que están dentro de una región hipervariable bajo un conjunto de criterios, y considerarse como que están fuera de una región hipervariable bajo un conjunto diferente de criterios. Una o más de estas posiciones también pueden encontrarse en regiones hipervariables extendidas. La divulgación proporciona anticuerpos que comprenden modificaciones en estas posiciones hipervariables híbridas. Los dominios variables de las cadenas pesadas y livianas nativas comprenden cada uno cuatro FRs, que adoptan en gran medida una configuración de láminas β , conectadas por tres CDRs que forman asas que conectan, y en algunos casos forman parte de, la estructura de láminas β . Las CDRs de cada cadena son mantenidas juntas en estrecha proximidad por las regiones FR en el orden FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4 y, con las CDRs de la otra cadena, contribuyen a la formación del sitio de unión al blanco de los anticuerpos (véase Kabat *et al.*, Sequences of Proteins of Immunological Interest (National Institute of Health, Bethesda, Md. 1987)). Como se usa aquí, la numeración de los residuos de amino ácidos de una inmunoglobulina se efectúa de acuerdo con el sistema de numeración de residuos de amino ácidos de inmunoglobulinas de Kabat *et al.*, a menos que se indique otra cosa.

Las secuencias de las regiones variables de las cadenas pesada y liviana de bevacizumab están representadas por SEQ ID NO:1 y SEQ ID NO:2, respectivamente. Las secuencias de las regiones variables de las cadenas pesada y liviana también se ilustran en la Figura 1A. Las secuencias de las CDRs de bevacizumab, y sus identificadores correspondientes, se presentan en la Figura 1B. Cualesquier secuencias nucleotídicas que codifiquen SEQ ID NO:1 o SEQ ID NO:2 pueden usarse en las composiciones y métodos de la presente divulgación.

Las secuencias de las cadenas pesada y liviana de ranibizumab están representadas por SEQ ID NO:9 y SEQ ID NO:10, respectivamente. Las secuencias de las cadenas pesada y liviana también se ilustran en la Figura 1C. Las secuencias de las CDRs de ranibizumab, y sus identificadores correspondientes, se presentan en la Figura 1D. Cualesquier secuencias nucleotídicas que codifiquen SEQ ID NO:9 o SEQ ID NO:10 pueden usarse en las composiciones y métodos de la presente divulgación.

La presente divulgación proporciona además fragmentos de anticuerpos anti-VEGF que comprenden secuencias de CDRs que están relacionadas con las secuencias de las CDRs de bevacizumab y ranibizumab. El término "fragmento de anticuerpo" se refiere a una porción de un anticuerpo de longitud completa, generalmente la región variable o de unión al blanco. Los ejemplos de fragmentos de anticuerpos incluyen los fragmentos Fab, Fab', F(ab')₂ y Fv. Un fragmento "Fv" es el fragmento de anticuerpo mínimo que contiene un sitio completo de reconocimiento y unión al blanco. Esta región está constituida por un dímero de un dominio variable de cadena pesada y uno de cadena liviana, en asociación no covalente estrecha (dímero VH-VL). Es en esta configuración que las tres CDRs de cada dominio variable interactúan para definir un sitio de unión al blanco en la superficie del dímero VH-VL. Frecuentemente, las seis CDRs confieren al anticuerpo especificidad de unión a un blanco. Sin embargo en algunos casos, incluso un solo dominio variable (o la mitad de un Fv que comprende sólo tres CDRs específicas para un blanco) puede tener la capacidad de reconocer y unirse a un blanco. Los fragmentos de anticuerpos "Fv de una sola cadena" o "scFv" comprenden los dominios VH y VL de un anticuerpo en una sola cadena polipeptídica. Generalmente, el polipéptido Fv además comprende un enlazador polipeptídico entre los dominios VH y VL, que permite que el scFv forme la estructura deseada para la unión al blanco. Los "anticuerpos de un solo dominio" están compuestos de un solo dominio VH o VL que exhibe suficiente afinidad por el blanco. En una modalidad específica, el anticuerpo de un solo dominio es un anticuerpo de camélido (véase por ejemplo, Riechmann, 1999, Journal of Immunological Methods 231:25-38).

El fragmento Fab contiene el dominio constante de la cadena liviana y el primer dominio constante (CH₁) de la cadena pesada. Los fragmentos Fab' difieren de los fragmentos Fab por la adición de unos pocos residuos en el terminal carboxilo del dominio CH₁ de la cadena pesada, incluyendo una o más cisteínas de la región de bisagra del anticuerpo. Los fragmentos F(ab') son producidos por corte del enlace disulfuro en las cisteínas de bisagra del producto de la digestión con pepsina F(ab')₂. Acoplamientos químicos adicionales de fragmentos de anticuerpos son conocidos para los técnicos de nivel medio en el arte.

En ciertas modalidades, los anticuerpos anti-VEGF de la divulgación son anticuerpos monoclonales. El término "anticuerpo monoclonal", como se usa aquí, no se limita a anticuerpos producidos por la tecnología del hibridoma. El término "anticuerpo monoclonal" se refiere a un anticuerpo que es derivado de un clon único, incluyendo cualquier clon eucariótico, procariótico o de fago, y no al método por el cual es producido. Los anticuerpos monoclonales útiles en relación con la presente divulgación pueden prepararse usando una amplia variedad de técnicas conocidas en el arte, incluyendo el uso de las tecnologías de hibridoma, recombinante y de exhibición en fagos o una combinación de las mismas. Los anticuerpos anti-VEGF de la divulgación incluyen anticuerpos quiméricos, primatizados, humanizados o humanos.

Los anticuerpos anti-VEGF de la divulgación pueden ser anticuerpos quiméricos. El término anticuerpo "quimérico", como se usa aquí, se refiere a un anticuerpo que tiene secuencias variables derivadas de una inmunoglobulina no humana, tal como un anticuerpo de rata o de ratón, y regiones constantes de inmunoglobulina humana, típicamente elegidas de una inmunoglobulina humana molde. Los métodos para producir anticuerpos quiméricos son conocidos en el arte. Véase por ejemplo, Morrison, 1985, Science 229(4719):1202-7; Oi *et al.*, 1986, BioTechniques 4:214-221; Gillies *et al.*, 1985, J. Immunol. Methods 125:191-202; patentes norteamericanas US números 5.807.715, 4.816.567 y 4.816.397, que se incorporan aquí por referencia en su totalidad.

Los anticuerpos anti-VEGF de la divulgación pueden ser humanizados. Las formas "humanizadas" de anticuerpos no humanos (por ejemplo, de murino) son inmunoglobulinas quiméricas, cadenas de inmunoglobulinas o fragmentos de las mismas (tales como Fv, Fab, Fab', F(ab')₂ u otros subdominios de unión al blanco de los anticuerpos) que contienen secuencias mínimas derivadas de una inmunoglobulina no humana. En general, el anticuerpo humanizado comprenderá sustancialmente el total de al menos uno, y típicamente dos, dominios variables, donde todas o sustancialmente todas las regiones CDR corresponden a las de una inmunoglobulina no humana, y todas o sustancialmente todas las regiones FR son las de una secuencia de inmunoglobulina humana. El anticuerpo humanizado también puede comprender al menos una porción de una región constante (Fc) de inmunoglobulina, típicamente la de una

secuencia de consenso de inmunoglobulina humana. Los métodos para la humanización de anticuerpos son conocidos en el arte. Véase por ejemplo, Riechmann *et al.*, 1988, Nature 332:323-7; patentes norteamericanas US números: 5.530.101, 5.585.089, 5.693.761, 5.693.762 y 6.180.370 de Queen *et al.*; patente europea EP 239 400; publicación PCT WO 91/09967; patente norteamericana US N° 5.225.539, patentes europeas EP 592 106 y EP 519 596; Padlan, 1991, Mol. Immunol., 28:489-498; Studnicka *et al.*, 1994, Prot. Eng. 7:805-814; Roguska *et al.*, 1994, Proc. Natl. Acad. Sci. 91:969-973; y patente norteamericana US N° 5.565.332, todas las cuales se incorporan aquí por referencia en su totalidad.

Los anticuerpos anti-VEGF de la divulgación pueden ser anticuerpos humanos. Anticuerpos anti-VEGF completamente "humanos" pueden ser deseables para el tratamiento terapéutico de pacientes humanos. Como se usan aquí, los "anticuerpos humanos" incluyen anticuerpos que tienen la secuencia de amino ácidos de una inmunoglobulina humana, e incluyen anticuerpos aislados de bibliotecas de inmunoglobulinas humanas o de animales transgénicos para una o más inmunoglobulinas humanas y que no expresan inmunoglobulinas endógenas. Los anticuerpos humanos pueden fabricarse por una variedad de métodos conocidos en el arte, incluyendo métodos de exhibición en fagos usando bibliotecas de anticuerpos derivadas de secuencias de inmunoglobulinas humanas. Véanse las patentes norteamericanas US números 4.444.887 y 4.716.111; y las publicaciones PCT WO 98/46645, WO 98/50433, WO 98/24893, WO 98/16654, WO 96/34096, WO 96/33735 y WO 91/10741, cada una de las cuales se incorpora aquí por referencia en su totalidad. Los anticuerpos humanos también pueden ser producidos usando ratones transgénicos que son incapaces de expresar inmunoglobulinas endógenas funcionales, pero que pueden expresar genes de inmunoglobulinas humanas. Véanse por ejemplo, las publicaciones PCT WO 98/24893, WO 92/01047, WO 96/34096, WO 96/33735; y las patentes norteamericanas US números 5.413.923, 5.625.126, 5.633.425, 5.569.825, 5.661.016, 5.545.806, 5.814.318, 5.885.793, 5.916.771 y 5.939.598, que se incorporan aquí por referencia en su totalidad. Además, empresas tales como Medarex (Princeton, NJ), Astellas Pharma (Deerfield, IL), Amgen (Thousand Oaks, CA) y Regeneron (Tarrytown, NY) pueden contratarse para que proporcionen anticuerpos humanos dirigidos contra un antígeno

seleccionado, usando tecnología similar a la descrita más arriba. Anticuerpos completamente humanos que reconocen a un epítipo seleccionado pueden generarse usando una técnica denominada "selección guiada". En esta propuesta, un anticuerpo monoclonal no humano seleccionado, por ejemplo un anticuerpo de ratón, se usa para guiar la selección de un anticuerpo completamente humano que reconoce al mismo epítipo (Jespers *et al.*, 1988, *Biotechnology* 12:899-903).

Los anticuerpos anti-VEGF de la divulgación pueden ser primatizados. El término "anticuerpo primatizado" se refiere a un anticuerpo que comprende regiones variables de mono y regiones constantes humanas. Los métodos para producir anticuerpos primatizados son conocidos en el arte. Véanse por ejemplo, las patentes norteamericanas US números 5.658.570, 5.681.722 y 5.693.780, que se incorporan aquí por referencia en su totalidad.

Los anticuerpos anti-VEGF de la divulgación pueden ser anticuerpos biespecíficos. Los anticuerpos biespecíficos son anticuerpos monoclonales, frecuentemente humanos o humanizados, que tienen especificidades de unión para al menos dos antígenos diferentes. En la presente divulgación, una de las especificidades de unión puede estar dirigida hacia VEGF, y la otra puede ser para cualquier otro antígeno, por ejemplo para una proteína de la superficie celular, receptor, subunidad de receptor, antígeno específico de un tejido, proteína derivada de un virus, proteína de envoltorio codificada por virus, proteína derivada de una bacteria o proteína de la superficie bacteriana, etc. En una modalidad específica, un anticuerpo de la divulgación es un anticuerpo biespecífico con especificidades de unión para ambos VEGF y CD3.

Los anticuerpos anti-VEGF de la divulgación incluyen anticuerpos derivatizados. Por ejemplo, pero no a modo de limitación, los anticuerpos derivatizados son modificados típicamente por glicosilación, acetilación, peguización, fosforilación, amidación, derivatización por grupos protectores/bloqueadores conocidos, corte proteolítico, enlace a un ligando celular o a otra proteína (véase la Sección 6.6 para una discusión sobre conjugados de anticuerpos), etc. Cualesquiera de numerosas modificaciones químicas pueden efectuarse por técnicas conocidas incluyendo, pero no limitadas a, corte químico específico, acetilación, formilación, síntesis

metabólica de tunicamicina, etc. Adicionalmente, el derivado puede contener uno o más amino ácidos no naturales, por ejemplo, usando la tecnología Ambrx (véase por ejemplo, Wolfson, 2006, Chem. Biol. 13(10):1011-2).

En otra modalidad de la divulgación, los anticuerpos anti-VEGF o fragmentos de los mismos pueden ser anticuerpos o fragmentos de anticuerpos cuya secuencia ha sido modificada para alterar al menos una función efectora biológica mediada por regiones constantes, con respecto a la secuencia de tipo silvestre correspondiente.

Por ejemplo, en algunas modalidades, un anticuerpo anti-VEGF de la divulgación puede ser modificado para reducir al menos una función efectora biológica mediada por regiones constantes, con respecto a un anticuerpo no modificado, por ejemplo, unión reducida al receptor de Fc (FcγR). La unión a FcγR puede reducirse mutando el segmento de la región constante de inmunoglobulina del anticuerpo en regiones particulares necesarias para las interacciones con FcγR (véase por ejemplo, Canfield and Morrison, 1991, J. Exp. Med. 173:1483-1491; y Lund *et al.*, 1991, J. Immunol. 147:2657-2662). Una reducción en la capacidad de unión a FcγR del anticuerpo también puede reducir otras funciones efectoras que se basan en interacciones con FcγR, tales como opsonización, fagocitosis y citotoxicidad celular dependiente de antígenos ("ADCC").

En otras modalidades, un anticuerpo anti-VEGF de la divulgación puede ser modificado para que adquiera o mejore al menos una función efectora biológica mediada por regiones constantes, con respecto a un anticuerpo no modificado, por ejemplo para que aumente las interacciones con FcγR (véase, por ejemplo, la solicitud norteamericana US 2006/0134709). Por ejemplo, un anticuerpo anti-VEGF de la divulgación puede tener una región constante que se une a FcγRIIA, FcγRIIB y/o FcγRIIA con mayor afinidad que la región constante de tipo silvestre correspondiente.

Así, los anticuerpos de la divulgación pueden tener alteraciones en la actividad biológica que resultan en opsonización, fagocitosis o ADCC aumentadas o disminuidas. Estas alteraciones son conocidas en el arte. Por ejemplo, modificaciones en los anticuerpos que reducen la actividad de ADCC se describen en la patente norteamericana US N° 5.834.597. Un

ejemplo de variante que disminuye la ADCC corresponde al "mutante 3", mostrado en la Figura 4 de la patente norteamericana US N° 5.834.597, donde el residuo 236 ha sido delecionado y los residuos 234, 235 y 237 (usando la numeración EU) están sustituidos por alaninas.

En algunas modalidades, los anticuerpos anti-VEGF de la divulgación tienen bajos niveles o carecen de fucosa. Los anticuerpos que carecen de fucosa han sido correlacionados con una actividad de ADCC aumentada, especialmente a bajas dosis de anticuerpo. Véase Shields *et al.*, 2002, J. Biol. Chem. 277:26733-26740; Shinkawa *et al.*, 2003, J. Biol. Chem. 278:3466-73. Los métodos para preparar anticuerpos sin fucosa incluyen el cultivo en células YB2/0 de mieloma de rata (ATCC CRL 1662). Las células YB2/0 expresan bajos niveles de ARNm de FUT8, que codifica la α -1,6-fucosiltransferasa, una enzima necesaria para la fucosilación de los polipéptidos.

En otro aspecto, los anticuerpos anti-VEGF o fragmentos de los mismos pueden ser anticuerpos o fragmentos de anticuerpos que han sido modificados para aumentar o reducir sus afinidades de unión al receptor de Fc fetal, FcRn, por ejemplo mutando el segmento de región constante de la inmunoglobulina en regiones particulares involucradas en las interacciones con FcRn (véase por ejemplo, la patente WO 2005/123780). En modalidades particulares, un anticuerpo anti-VEGF de la clase IgG es mutado de tal manera que al menos uno de los residuos de amino ácidos 250, 314 y 428 de la región constante de la cadena pesada es sustituido por sí solo, o en cualesquier combinaciones de los mismos, tales como en las posiciones 250 y 428, o en las posiciones 250 y 314, o en las posiciones 314 y 428, o en las posiciones 250, 314 y 428, siendo las posiciones 250 y 428 una combinación específica. Para la posición 250, el residuo de amino ácido sustituyente puede ser cualquier residuo de amino ácido distinto de treonina, incluyendo pero no limitado a, alanina, cisteína, ácido aspártico, ácido glutámico, fenilalanina, glicina, histidina, isoleucina, lisina, leucina, metionina, asparagina, prolina, glutamina, arginina, serina, valina, triptofano o tirosina. Para la posición 314, el residuo de amino ácido sustituyente puede ser cualquier residuo de amino ácido distinto de leucina, incluyendo pero no limitado a, alanina, cisteína, ácido aspártico, ácido glutámico, fenilalanina, glicina, histidina, isoleucina, lisina, metionina, asparagina, prolina, glutamina, arginina, serina, treonina, valina, triptofano o

tirosina. Para la posición 428, los residuos de amino ácidos sustituyentes pueden ser cualquier residuo de amino ácido distinto de metionina, incluyendo pero no limitado a, alanina, cisteína, ácido aspártico, ácido glutámico, fenilalanina, glicina, histidina, isoleucina, lisina, leucina, asparagina, prolina, glutamina, arginina, serina, treonina, valina, triptofano o tirosina. Combinaciones específicas de sustituciones de amino ácidos adecuadas se identifican en la Tabla 1 de la patente norteamericana US N° 7.217.797, cuya tabla se incorpora aquí por referencia en su totalidad. Estas mutaciones aumentan la unión del anticuerpo a FcRn, lo que protege al anticuerpo de la degradación y aumenta su vida media.

En otros aspectos, un anticuerpo anti-VEGF tiene uno o más amino ácidos insertados en una o más de sus regiones hipervariables, por ejemplo como se describe en Jung and Plückthun, 1997, Protein Engineering 10(9): 959-966; Yazaki *et al.*, 2004, Protein Eng. Des Sel. 17(5):481-9. Epub 2004 Aug 17; y la solicitud norteamericana US N° 2007/0280931.

En diversas modalidades, los anticuerpos anti-VEGF o fragmentos de los mismos pueden ser anticuerpos o fragmentos de anticuerpos que han sido modificados para una expresión aumentada en huéspedes heterólogos. En ciertas modalidades, los anticuerpos anti-VEGF o fragmentos de los mismos pueden ser anticuerpos o fragmentos de anticuerpos que han sido modificados para una expresión aumentada en, y/o secreción aumentada desde, células huéspedes heterólogas. En algunas modalidades, los anticuerpos anti-VEGF o fragmentos de los mismos son modificados para una expresión aumentada en bacterias, tal como *E. coli*. En otras modalidades, los anticuerpos anti-VEGF o fragmentos de los mismos son modificados para una expresión aumentada en levadura (Kieke *et al.*, 1999, Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 96:5651-5656). En otras modalidades, los anticuerpos anti-VEGF o fragmentos de los mismos son modificados para una expresión aumentada en células de insectos. En modalidades adicionales, los anticuerpos anti-VEGF o fragmentos de los mismos son modificados para una expresión aumentada en células de mamíferos, tales como células CHO.

En ciertas modalidades, los anticuerpos anti-VEGF o fragmentos de los mismos pueden ser anticuerpos o fragmentos de anticuerpos que han sido modificados para aumentar la estabilidad de los anticuerpos durante la producción. En algunas modalidades, los anticuerpos o

fragmentos de los mismos pueden ser modificados para reemplazar uno o más amino ácidos tales como asparagina o glutamina, que son susceptibles a desamidación no enzimática, por amino ácidos que no sufren desamidación (Huang *et al.*, 2005, Anal. Chem. 77:1432-1439). En otras modalidades, los anticuerpos o fragmentos de los mismos pueden ser modificados para reemplazar uno o más amino ácidos que son susceptibles a oxidación, tales como metionina, cisteína o triptofano, por un amino ácido que no sufre fácilmente una oxidación. En otras modalidades, los anticuerpos o fragmentos de los mismos pueden ser modificados para reemplazar uno o más amino ácidos que son susceptibles a ciclación, tales como asparagina o ácido glutámico, por un amino ácido que no sufre fácilmente una ciclación.

6.2 ÁCIDOS NUCLEICOS Y SISTEMAS DE EXPRESIÓN

La presente divulgación incluye moléculas de ácidos nucleicos y células huésped que codifican los anticuerpos anti-VEGF de la divulgación.

Un anticuerpo anti-VEGF de la divulgación puede prepararse por expresión recombinante de genes de las cadenas liviana y pesada de inmunoglobulina en una célula huésped. Para expresar un anticuerpo en forma recombinante, una célula huésped es transfectada con uno o más vectores de expresión recombinantes que llevan fragmentos de ADN que codifican las cadenas liviana y pesada de inmunoglobulina del anticuerpo, de manera tal que las cadenas liviana y pesada sean expresadas en la célula huésped y, opcionalmente, sean secretadas al medio en el cual se cultivan las células huésped, desde cuyo medio los anticuerpos pueden ser recuperados. Metodologías estándar de ADN recombinante se usan para obtener genes de las cadenas pesada y liviana del anticuerpo, incorporar estos genes en vectores de expresión recombinantes e introducir los vectores en células huésped, tales como las que se describen en Molecular Cloning; A Laboratory Manual, Second Edition (Sambrook, Fritsch and Maniatis (eds), Cold Spring Harbor, N.Y., 1989), Current Protocols in Molecular Biology (Ausubel, F.M. *et al.*, eds., Greene Publishing Associates, 1989) y en la patente norteamericana US N° 4.816.397.

En una modalidad, los anticuerpos anti-VEGF son similares a bevacizumab o ranibizumab excepto por cambios en una o más CDRs. En otra modalidad, los anticuerpos anti-VEGF son similares a bevacizumab o ranibizumab excepto por cambios en una o más regiones de armazón. En otra modalidad, los anticuerpos anti-VEGF son similares a bevacizumab o ranibizumab excepto por cambios en una o más CDRs y en una o más regiones de armazón. Estos anticuerpos se nombran aquí colectivamente como que tienen secuencias "relacionadas con bevacizumab" o "relacionadas con ranibizumab", y a veces se nombran simplemente como anticuerpos anti-VEGF de la divulgación. Para generar ácidos nucleicos que codifican anticuerpos anti-VEGF, primero se obtienen fragmentos de ADN que codifican las regiones variables de las cadenas liviana y pesada. Estos ADNs pueden obtenerse por amplificación y modificación de ADN de línea germinal o ADNc que codifica secuencias variables de las cadenas liviana y pesada, por ejemplo usando la reacción en cadena de polimerasa (PCR). Secuencias de ADN de línea germinal para genes de regiones variables de las cadenas pesada y liviana humanas son conocidas en el arte (véase por ejemplo, la base de datos de secuencias de líneas germinales humanas "VBASE"; véase también Kabat, E. A. *et al.*, 1991, Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242; Tomlinson *et al.*, 1992, J. Mol. Biol. 22T:116-198; y Cox *et al.*, 1994, Eur. J. Immunol. 24:827-836; incorporándose aquí los contenidos de cada uno de ellos por referencia). Un fragmento de ADN que codifica la región variable de la cadena pesada o liviana de bevacizumab o ranibizumab puede ser sintetizado y usado como molde en la mutagénesis para generar una variante como se describe aquí, usando técnicas rutinarias de mutagénesis; alternatively, un fragmento de ADN que codifica la variante puede ser sintetizado directamente.

Una vez que se obtienen los fragmentos de ADN que codifican segmentos VH y VL anti-VEGF, estos fragmentos de ADN pueden ser manipulados adicionalmente por técnicas estándar de ADN recombinante, por ejemplo para convertir los genes de regiones variables en genes de cadenas de un anticuerpo de longitud completa, en genes de fragmentos Fab o en un gen de scFv. En estas manipulaciones, un fragmento de ADN que codifica VL o VH es enlazado

operativamente a otro fragmento de ADN que codifica otra proteína, tal como una región constante de anticuerpo o un enlazador flexible. El término "enlazado operativamente", como se usa en este contexto, pretende indicar que los dos fragmentos de ADN se unen de tal manera que las secuencias de amino ácidos codificadas por los dos fragmentos de ADN permanecen en el mismo marco.

El ADN aislado que codifica la región VH puede ser convertido en un gen de cadena pesada de longitud completa, enlazando operativamente el ADN que codifica VH a otra molécula de ADN que codifica regiones constantes de la cadena pesada (CH₁, CH₂, CH₃ y opcionalmente CH₄). Las secuencias de los genes de regiones constantes de cadenas pesadas humanas son conocidas en el arte (véase por ejemplo, Kabat, E.A. *et al.*, 1991, Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242) y fragmentos de ADN que abarcan estas regiones pueden obtenerse por amplificación por PCR estándar. La región constante de la cadena pesada puede ser una región constante de IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA, IgE, IgM o IgD, pero en ciertas modalidades es una región constante de IgG₁ o IgG₄. Para un gen de cadena pesada de un fragmento Fab, el ADN que codifica VH puede ser enlazado operativamente a otra molécula de ADN que codifica sólo la región constante CH₁ de la cadena pesada.

El ADN aislado que codifica la región VL puede ser convertido en un gen de cadena liviana de longitud completa (y también en un gen de cadena liviana de un Fab), enlazando operativamente el ADN que codifica VL a otra molécula de ADN que codifica la región constante de la cadena liviana, CL. Las secuencias de los genes de regiones constantes de cadenas livianas humanas son conocidas en el arte (véase por ejemplo, Kabat, E.A. *et al.*, 1991, Sequences of Proteins of Immunological Interest (Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242)) y fragmentos de ADN que abarcan estas regiones pueden obtenerse por amplificación por PCR estándar. La región constante de la cadena liviana puede ser una región constante kappa o lambda, pero en ciertas modalidades es una región constante kappa. Para crear un gen de scFv, los fragmentos de ADN que codifican VH y VL son enlazados operativamente a otro fragmento que codifica un enlazador flexible, por ejemplo que

codifica la secuencia de amino ácidos (Gly₄-Ser)₃, de tal manera que las secuencias de VH y VL puedan ser expresadas como una proteína de una sola cadena contigua, con las regiones VL y VH unidas por el enlazador flexible (véase por ejemplo, Bird *et al.*, 1988, Science 242:423-426; Huston *et al.*, 1988, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883; McCafferty *et al.*, 1990, Nature 348:552-554).

Para expresar los anticuerpos anti-VEGF de la divulgación, los ADNs que codifican cadenas livianas y pesadas de longitud parcial o completa, obtenidos como se describió más arriba, son insertados en vectores de expresión de tal manera que los genes son enlazados operativamente a secuencias de control de la transcripción y la traducción. En este contexto, el término "enlazado operativamente" pretende indicar que un gen de anticuerpo está ligado dentro de un vector de manera tal que las secuencias de control de la transcripción y la traducción dentro del vector cumplen su función propuesta de regular la transcripción y la traducción del gen de anticuerpo. El vector de expresión y las secuencias de control de la expresión se eligen para que sean compatibles con la célula huésped usada para la expresión. El gen de la cadena liviana del anticuerpo y el gen de la cadena pesada del anticuerpo pueden ser insertados en vectores separados o, más típicamente, ambos genes son insertados en el mismo vector de expresión.

Los genes del anticuerpo son insertados en el vector de expresión por métodos estándar (por ejemplo, ligazón de sitios de restricción complementarios en el fragmento del gen del anticuerpo y el vector, o ligazón de extremo romo si no hay sitios de restricción presentes). Antes de la inserción de las secuencias de cadena liviana o pesada de los anticuerpos anti-VEGF de la divulgación, el vector de expresión ya puede llevar secuencias de regiones constantes del anticuerpo. Por ejemplo, una propuesta para convertir las secuencias de VH y VL anti-VEGF en genes del anticuerpo de longitud completa, es insertarlas en vectores de expresión que ya codifican regiones constantes de la cadena pesada y regiones constantes de la cadena liviana, respectivamente, de tal manera que el segmento VH sea enlazado operativamente al o a los segmentos CH dentro del vector y el segmento VL sea enlazado operativamente al segmento CL dentro del vector. Adicional o alternativamente, el vector de expresión recombinante puede codificar un péptido de señal que facilita la secreción de la cadena del anticuerpo desde una

célula huésped. El gen de la cadena del anticuerpo puede ser clonado dentro del vector de tal manera que el péptido de señal sea enlazado en el mismo marco al terminal amino del gen de la cadena del anticuerpo. El péptido de señal puede ser un péptido de señal de inmunoglobulina o un péptido de señal heterólogo (o sea, un péptido de señal de una proteína que no es inmunoglobulina).

Además de los genes de las cadenas del anticuerpo, los vectores de expresión recombinantes de la divulgación llevan secuencias reguladoras que controlan la expresión de los genes de las cadenas del anticuerpo en una célula huésped. El término "secuencia reguladora" está destinado a incluir promotores, potenciadores ("enhancers") y otros elementos de control de la expresión (por ejemplo, señales de poliadenilación) que controlan la transcripción o la traducción de los genes de las cadenas del anticuerpo. Estas secuencias reguladoras se describen, por ejemplo, en Goeddel, *Gene Expression Technology: Methods in Enzymology* 185 (Academic Press, San Diego, CA, 1990). Los expertos en el arte podrán apreciar que el diseño del vector de expresión, incluyendo la selección de las secuencias reguladoras, puede depender de factores tales como la elección de la célula huésped que será transformada, el nivel de expresión de la proteína deseado, etc. Las secuencias reguladoras adecuadas para la expresión en células huésped de mamíferos incluyen elementos virales que dirigen altos niveles de expresión de proteínas en células de mamíferos, tales como promotores y/o potenciadores derivados de citomegalovirus (CMV) (tal como el promotor/potenciador de CMV), Virus 40 de simio (SV40) (tal como el promotor/potenciador de SV40), adenovirus (por ejemplo, el promotor tardío principal de adenovirus (AdMLP)) y poliovirus. Para una descripción adicional de elementos reguladores virales y sus secuencias, véase por ejemplo, la patente norteamericana US N° 5.168.062 de Stinski, la patente norteamericana US N° 4.510.245 de Bell *et al.*, y la patente norteamericana US N° 4.968.615 de Schaffner *et al.*

Además de los genes de las cadenas del anticuerpo y las secuencias reguladoras, los vectores de expresión recombinantes de la divulgación pueden llevar secuencias adicionales, tales como secuencias que regulan la replicación del vector en células huésped (por ejemplo, orígenes de replicación) y genes marcadores seleccionables. El gen marcador seleccionable

facilita la selección de las células huésped en las cuales ha sido introducido el vector (véanse por ejemplo, las patentes norteamericanas US números 4.399.216, 4.634.665 y 5.179.017, todas de Axel *et al.*). Por ejemplo, típicamente el gen marcador seleccionable confiere resistencia a fármacos tales como G418, puromicina, blasticidina, higromicina o metotrexato, en una célula huésped en la cual ha sido introducido el vector. Los genes marcadores seleccionables adecuados incluyen el gen de dihidrofolato reductasa (DHFR) (para el uso en células huésped DHFR⁻ con selección/amplificación con metotrexato) y el neo gen (para la selección con G418). Para la expresión de las cadenas liviana y pesada, el o los vectores de expresión que codifican las cadenas pesada y liviana son transfectados dentro de una célula huésped por técnicas estándar. Las diversas formas del término "transfección" están destinadas a abarcar una amplia variedad de técnicas comúnmente usadas para la introducción de ADN exógeno en una célula huésped procariótica o eucariótica, por ejemplo electroporación, lipofección, precipitación con fosfato de calcio, transfección con DEAE-dextrano y similares.

Es posible expresar los anticuerpos de la divulgación ya sea en células huésped procarióticas o eucarióticas. En ciertas modalidades, la expresión de los anticuerpos se efectúa en células eucarióticas, por ejemplo células huésped de mamíferos, para una secreción óptima de un anticuerpo correctamente plegado e inmunológicamente activo. Ejemplos de células huésped de mamíferos para expresar los anticuerpos recombinantes de la divulgación incluyen células de ovario de hámster chino (células CHO) (incluyendo células CHO DHFR⁻, descritas en Urlaub and Chasin, 1980, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4216-4220, usadas con un marcador seleccionable de DHFR, por ejemplo como se describe en Kaufman and Sharp, 1982, Mol. Biol. 159:601-621), células de mieloma NS0, células COS, células 293 y células SP2/0. Cuando los vectores de expresión recombinantes que codifican genes de anticuerpos son introducidos en células huésped de mamíferos, los anticuerpos se producen cultivando las células huésped por un período de tiempo suficiente para permitir la expresión del anticuerpo en las células huésped o la secreción del anticuerpo al medio de cultivo en el cual crecen las células huésped. Los anticuerpos pueden ser recuperados del medio de cultivo usando métodos estándar de purificación de proteínas. También pueden usarse células huésped para producir porciones de anticuerpos intactos, tales

como fragmentos Fab o moléculas de scFv. Se entiende que las variaciones del procedimiento mencionado más arriba están dentro del alcance de la presente divulgación. Por ejemplo, puede ser deseable transfectar una célula huésped con ADN que codifica ya sea la cadena liviana o la cadena pesada (pero no ambas) de un anticuerpo anti-VEGF de esta divulgación.

También puede usarse tecnología de ADN recombinante para remover parte de o todo el ADN que codifica una o ambas de las cadenas liviana y pesada que no es necesario para la unión a VEGF. Las moléculas expresadas a partir de estas moléculas truncadas de ADN también están incluidas en los anticuerpos de la divulgación.

Además, pueden producirse anticuerpos bifuncionales en los cuales una cadena pesada y una cadena liviana son un anticuerpo de la divulgación y las otras cadenas pesada y liviana son específicas para un antígeno distinto de VEGF, por entrecruzamiento de un anticuerpo de la divulgación con un segundo anticuerpo por métodos estándar de entrecruzamiento químico. También pueden fabricarse anticuerpos bifuncionales expresando un ácido nucleico modificado por ingeniería genética para codificar un anticuerpo bifuncional.

En ciertas modalidades, anticuerpos con doble especificidad, o sea, anticuerpos que se unen a VEGF y a un antígeno no relacionado usando el mismo sitio de unión, pueden ser producidos mutando residuos de amino ácidos en las CDRs de la cadena liviana y/o de la cadena pesada. En diversas modalidades, anticuerpos con doble especificidad que se unen a dos antígenos, tales como HER2 y VEGF, pueden ser producidos mutando residuos de amino ácidos en la periferia del sitio de unión al antígeno (Bostrom *et al.*, 2009, Science 323:1610-1614). Pueden fabricarse anticuerpos con doble funcionalidad expresando un ácido nucleico modificado por ingeniería genética para codificar un anticuerpo con doble especificidad.

Para la expresión recombinante de un anticuerpo anti-VEGF de la divulgación, la célula huésped puede ser co-transfectada con dos vectores de expresión de la divulgación, donde el primer vector codifica un polipéptido derivado de la cadena pesada y el segundo vector codifica un polipéptido derivado de la cadena liviana. Típicamente, los dos vectores contienen cada uno un marcador seleccionable separado. Alternativamente, puede usarse un solo vector que codifica ambos polipéptidos el de la cadena pesada y el de la cadena liviana.

Una vez que se genera un ácido nucleico que codifica una o más porciones de un anticuerpo anti-VEGF, pueden introducirse alteraciones o mutaciones adicionales en la secuencia de codificación, por ejemplo para generar ácidos nucleicos que codifican anticuerpos con diferentes secuencias de CDRs, anticuerpos con afinidad reducida por el receptor de Fc, o anticuerpos de diferentes subclases.

Los anticuerpos anti-VEGF de la divulgación también pueden ser producidos por síntesis química (por ejemplo, por los métodos descritos en Solid Phase Peptide Synthesis, 2nd ed., 1984 The Pierce Chemical Co., Rockford, IL). También pueden generarse anticuerpos variantes usando una plataforma libre de células (véase por ejemplo, Chu *et al.*, 2001, Biochemia No. 2 (Roche Molecular Biologicals)).

Una vez que un anticuerpo anti-VEGF de la divulgación ha sido producido por expresión recombinante, puede ser purificado por cualquier método conocido en el arte para la purificación de una molécula de inmunoglobulina, por ejemplo por cromatografía (por ejemplo, cromatografía por intercambio iónico, por afinidad, particularmente por afinidad para VEGF después de una selección con Proteína A o Proteína G, y cromatografía en columna de exclusión molecular), centrifugación, solubilidad diferenciada o por cualquier otra técnica estándar para la purificación de proteínas. Además, los anticuerpos anti-VEGF de la presente divulgación o fragmentos de los mismos pueden ser fusionados a secuencias de polipéptidos heterólogos descritas aquí o conocidas de otra manera en el arte, para facilitar la purificación.

Una vez aislado, un anticuerpo anti-VEGF puede, si se desea, ser purificado adicionalmente, por ejemplo por cromatografía líquida de alta resolución (véase por ejemplo, Fisher, Laboratory Techniques In Biochemistry And Molecular Biology (Work and Burdon, eds., Elsevier, 1980)) o por cromatografía por filtración en gel en una columna Superdex® 75 (Pharmacia Biotech AB, Uppsala, Suecia).

6.3 ACTIVIDADES BIOLÓGICAS DE LOS ANTICUERPOS ANTI-VEGF

En ciertas modalidades, los anticuerpos anti-VEGF de la divulgación tienen ciertas actividades biológicas, tales como competir con bevacizumab o ranibizumab por la unión a VEGF o neutralizar la actividad de VEGF.

En consecuencia, en ciertas modalidades, los anticuerpos anti-VEGF de la divulgación compiten con bevacizumab o ranibizumab por la unión a VEGF. La capacidad de competir por la unión a VEGF puede determinarse usando un ensayo de competencia. En un ejemplo de un ensayo de competencia, VEGF es adherido a una superficie sólida, por ejemplo una placa de micropocillos, contactando la placa con una solución de VEGF (por ejemplo, a una concentración de 1 µg/ml en PBS durante la noche a 4°C). La placa se lava (por ejemplo, Tween 20 al 0,1% en PBS) y se bloquea (por ejemplo, en Superblock, Thermo Scientific, Rockford, IL). Una mezcla de una cantidad de sub-saturación de bevacizumab biotinilado (80 ng/ml) o una cantidad equivalente de ranibizumab biotinilado y bevacizumab (o ranibizumab, según sea el caso) no marcado (el anticuerpo de "referencia") o anticuerpo anti-VEGF competidor (el anticuerpo "de prueba") en dilución seriada (por ejemplo, a una concentración de 2,8 µg/ml, 8,3 µg/ml o 25 µg/ml) en tampón de ELISA (por ejemplo, 1% de BSA y 0,1% de Tween 20 en PBS) se añade a los pocillos, y las placas se incuban por 1 hora con agitación suave. La placa se lava, se añade a cada pocillo 1 µg/ml de estreptavidina conjugada con HRP diluida en tampón de ELISA, y las placas se incuban por 1 hora. Las placas se lavan y los anticuerpos unidos se detectan mediante la adición de un sustrato (por ejemplo, TMB, Biofx Laboratories Inc., Owings Mills, MD). La reacción se termina por adición de tampón de detención (por ejemplo, Bio FX Stop Reagents, Biofx Laboratories Inc., Owings Mills, MD) y la absorbancia se mide a 650 nm usando una lectora de microplacas (por ejemplo, VERSAmax, Molecular Devices, Sunnyvale, CA). También pueden usarse variaciones de este ensayo de competencia para determinar la competencia entre un anticuerpo anti-VEGF de la divulgación y bevacizumab o ranibizumab. Por ejemplo, en ciertos aspectos, el anticuerpo anti-VEGF se usa como anticuerpo de referencia y bevacizumab o ranibizumab se usa como anticuerpo de prueba. Adicionalmente, en lugar de VEGF soluble, puede usarse VEGF unido a membrana expresado en la superficie de células (por

ejemplo, células de mamíferos) en cultivo. Otros formatos para los ensayos de competencia son conocidos en el arte y pueden emplearse.

En diversas modalidades, un anticuerpo anti-VEGF de la divulgación reduce la unión de bevacizumab o ranibizumab marcado en al menos 30%, en al menos 40%, en al menos 50%, en al menos 60%, en al menos 70%, en al menos 80%, en al menos 90%, en al menos 95%, en al menos 99%, o en un porcentaje en un rango entre cualquiera de los valores anteriores (por ejemplo, un anticuerpo anti-VEGF de la divulgación reduce la unión de bevacizumab o ranibizumab marcado en 50% a 70%) cuando el anticuerpo anti-VEGF se usa a una concentración de 0,08 µg/ml, 0,4 µg/ml, 2 µg/ml, 10 µg/ml, 50 µg/ml, 100 µg/ml o a una concentración en un rango entre cualquiera de los valores anteriores (por ejemplo, a una concentración en el rango de 2 µg/ml a 10 µg/ml).

En otras modalidades, bevacizumab o ranibizumab reduce la unión de un anticuerpo anti-VEGF de la divulgación marcado en al menos 40%, en al menos 50%, en al menos 60%, en al menos 70%, en al menos 80%, en al menos 90%, o en un porcentaje en un rango entre cualquiera de los valores anteriores (por ejemplo, bevacizumab o ranibizumab reduce la unión de un anticuerpo anti-VEGF de la divulgación marcado en 50% a 70%) cuando bevacizumab o ranibizumab se usa a una concentración de 0,4 µg/ml, 2 µg/ml, 10 µg/ml, 50 µg/ml, 250 µg/ml o a una concentración en un rango entre cualquiera de los valores anteriores (por ejemplo, a una concentración en el rango de 2 µg/ml a 10 µg/ml).

En otros aspectos, un anticuerpo anti-VEGF de la divulgación inhibe (o neutraliza) la actividad de VEGF en una gama de ensayos *in vitro*, tales como proliferación celular o migración celular. Por ejemplo, en una modalidad, la actividad de VEGF ensayada es la inducción de la proliferación de células endoteliales ("EC") (véase por ejemplo, el protocolo de Qin *et al.*, 2006, J. Biol. Chem. 281:32550-32558). En otra modalidad, la actividad de VEGF ensayada es la inducción de la migración de EC (véase por ejemplo, el protocolo del ensayo de cicatrización ("scratch assay") *in vitro* descrito por Liang *et al.*, 2007, Nat. Protoc. 2:329-333). En una modalidad específica, un anticuerpo anti-VEGF se analiza en cuanto a su capacidad para revertir la proliferación y la migración celular estimuladas por VEGF, y la deslocalización de

proteínas de unión estrecha inducida por VEGF₁₆₅ en células endoteliales retinianas de bovino inmortalizadas (Deissler *et al.*, 2008, British Journal of Ophthalmology 92:839-843). En otra modalidad, la neutralización de la actividad de VEGF se determina usando un ensayo de reportero (véase por ejemplo, Yohn *et al.*, 2003, Biological & Pharmaceutical Bulletin 26(4):417-20 y la patente norteamericana US N° 6.787.323).

Otros formatos para ensayos de neutralización de VEGF son conocidos en el arte y pueden emplearse.

En diversas modalidades, un anticuerpo anti-VEGF de la divulgación neutraliza a VEGF en al menos 30%, en al menos 40%, en al menos 50%, en al menos 60%, en al menos 70%, en al menos 80%, en al menos 90%, o en un porcentaje en un rango entre cualquiera de los valores anteriores (por ejemplo, un anticuerpo anti-VEGF de la divulgación neutraliza la actividad de VEGF en un 50% a 70%) cuando el anticuerpo anti-VEGF se usa a una concentración de 2 ng/ml, 5 ng/ml, 10 ng/ml, 20 ng/ml, 0,1 µg/ml, 0,2 µg/ml, 1 µg/ml, 2 µg/ml, 5 µg/ml, 10 µg/ml, 20 µg/ml, o a una concentración en un rango entre cualquiera de los valores anteriores (por ejemplo, a una concentración en el rango de 1 µg/ml a 5 µg/ml).

En algunas modalidades, un anticuerpo anti-VEGF de la divulgación es al menos 0,7 veces de eficaz, 0,8 veces de eficaz, al menos 0,9 veces de eficaz, al menos 1 vez de eficaz, al menos 1,1 veces de eficaz, al menos 1,25 veces de eficaz, al menos 1,5 veces de eficaz, al menos 2 veces de eficaz, al menos 5 veces de eficaz, al menos 10 veces de eficaz, al menos 20 veces de eficaz, al menos 50 veces de eficaz, al menos 100 veces de eficaz, al menos 200 veces de eficaz, al menos 500 veces de eficaz, al menos 1.000 veces de eficaz con respecto a bevacizumab o ranibizumab para neutralizar a VEGF, o tiene una eficacia para neutralizar a VEGF con respecto a bevacizumab o ranibizumab en un rango entre cualquier par de los valores anteriores (por ejemplo, 0,9 veces a 5 veces de eficaz con respecto a bevacizumab o ranibizumab o 2 veces a 50 veces más eficaz que bevacizumab o ranibizumab para neutralizar a VEGF).

6.4 PROPIEDADES CINÉTICAS DE LOS ANTICUERPOS ANTI-VEGF

En ciertas modalidades, los anticuerpos anti-VEGF de la divulgación tienen una alta afinidad de unión a VEGF. En modalidades específicas, los anticuerpos anti-VEGF de la presente divulgación tienen constantes de velocidad de asociación (valores de k_{on} o k_a), constantes de velocidad de disociación (valores de k_{off} o k_d), constantes de afinidad (valores de K_A), constantes de disociación (valores de K_D) y/o valores de IC_{50} específicos. En diversas modalidades, las constantes de unión para la interacción de los anticuerpos anti-VEGF con el receptor de VEGF pueden determinarse usando resonancia de plasmón de superficie, por ejemplo, de acuerdo con el método divulgado en Karlsson *et al.*, 1991, J. Immunol. Methods 145:229-240. En ciertos aspectos, estos valores se seleccionan de las modalidades siguientes.

En una modalidad específica, un anticuerpo anti-VEGF de la divulgación se une a VEGF con una k_{on} de al menos $10^4 M^{-1}s^{-1}$, al menos $5 \times 10^4 M^{-1}s^{-1}$, al menos $10^5 M^{-1}s^{-1}$, al menos $5 \times 10^5 M^{-1}s^{-1}$, al menos $10^6 M^{-1}s^{-1}$, al menos $5 \times 10^6 M^{-1}s^{-1}$, al menos $10^7 M^{-1}s^{-1}$, al menos $5 \times 10^7 M^{-1}s^{-1}$, al menos $10^8 M^{-1}s^{-1}$, al menos $5 \times 10^8 M^{-1}s^{-1}$, al menos $10^9 M^{-1}s^{-1}$ o con una k_{on} en cualquier rango entre cualquier par de los valores anteriores (por ejemplo, 5×10^5 a $5 \times 10^6 M^{-1}s^{-1}$ o 10^7 a $10^8 M^{-1}s^{-1}$).

En otra modalidad, un anticuerpo anti-VEGF de la divulgación se une a VEGF con una velocidad k_{off} de $10^{-3} s^{-1}$ o menos, $5 \times 10^{-4} s^{-1}$ o menos, $10^{-4} s^{-1}$ o menos, $5 \times 10^{-5} s^{-1}$ o menos, $10^{-5} s^{-1}$ o menos, $5 \times 10^{-6} s^{-1}$ o menos, $10^{-6} s^{-1}$ o menos, $5 \times 10^{-7} s^{-1}$ o menos, $10^{-7} s^{-1}$ o menos, $5 \times 10^{-8} s^{-1}$ o menos, $10^{-8} s^{-1}$ o menos, o con una velocidad k_{off} en cualquier rango entre cualquier par de los valores anteriores (por ejemplo, 5×10^{-4} a $10^{-6} s^{-1}$, o 10^{-3} a $5 \times 10^{-5} s^{-1}$).

En otra modalidad, un anticuerpo anti-VEGF de la divulgación se une a VEGF con una K_A (k_{on}/k_{off}) de al menos $10^8 M^{-1}$, al menos $5 \times 10^9 M^{-1}$, al menos $10^{10} M^{-1}$, al menos $5 \times 10^{10} M^{-1}$, $10^{11} M^{-1}$, al menos $5 \times 10^{11} M^{-1}$, al menos $10^{12} M^{-1}$, al menos $5 \times 10^{12} M^{-1}$, al menos $10^{13} M^{-1}$, al menos $5 \times 10^{13} M^{-1}$, al menos $10^{14} M^{-1}$, al menos $5 \times 10^{14} M^{-1}$, al menos $10^{15} M^{-1}$ o con una K_A en cualquier rango entre cualquier par de los valores anteriores (por ejemplo, de $5 \times 10^9 M^{-1}$ a $10^{11} M^{-1}$, o de $10^{11} M^{-1}$ a $5 \times 10^{14} M^{-1}$).

En otras modalidades, un anticuerpo anti-VEGF de la divulgación se une a VEGF con una K_D (k_{off}/k_{on}) de $10^{-8} M$ o menos, $5 \times 10^{-9} M$ o menos, $10^{-9} M$ o menos, $5 \times 10^{-10} M$ o

menos, 10^{-10} M o menos, 5×10^{-11} M o menos, 10^{-11} M o menos, 5×10^{-12} M o menos, 10^{-12} M o menos, 5×10^{-13} M o menos, 10^{-13} M o menos, 5×10^{-14} M o menos, 10^{-14} M o menos, 5×10^{-15} M o menos, 10^{-15} M o menos, o con una K_D en cualquier rango entre cualquier par de los valores anteriores (por ejemplo, de 5×10^{-9} a 5×10^{-12} M, o de 5×10^{-11} M a 5×10^{-13} M).

En modalidades específicas, el valor de K_D (k_{off}/k_{on}) se determina por ensayos bien conocidos en el arte o descritos aquí, por ejemplo ELISA, calorimetría de titulación isotérmica (ITC), ensayo de polarización fluorescente o cualesquier otros biosensores tal como BIAcore.

En algunas modalidades, un anticuerpo anti-VEGF de la divulgación se une a VEGF e inhibe la unión de VEGF a un receptor de VEGF (Flt-1 o Flk-1) con un valor de IC_{50} de menos de 5×10^7 nM, menos de 10^7 nM, menos de 5×10^6 nM, menos de 10^6 nM, menos de 5×10^5 nM, menos de 10^5 nM, menos de 5×10^4 nM, menos de 10^4 nM, menos de 5×10^3 nM, menos de 10^3 nM, menos de 5×10^2 nM, menos de 100 nM, menos de 90 nM, menos de 80 nM, menos de 70 nM, menos de 65 nM, menos de 60 nM, menos de 50 nM, menos de 40 nM, menos de 30 nM, menos de 25 nM, menos de 20 nM, menos de 15 nM, menos de 12 nM, menos de 10 nM, menos de 5 nM, menos de 1 nM, menos de 5×10^{-1} nM, menos de 10^{-1} nM, menos de 5×10^{-2} nM, menos de 10^{-2} nM, menos de 5×10^{-3} nM, menos de 10^{-3} nM, menos de 5×10^{-4} nM, o menos de 10^{-4} nM, o con una IC_{50} en cualquier rango entre cualquier par de los valores anteriores (por ejemplo, 5×10^7 a 50 nM, o 15 nM a 5×10^{-3} nM). La IC_{50} puede medirse de acuerdo con métodos bien conocidos en el arte o descritos aquí, por ejemplo ELISA.

En otras modalidades, un anticuerpo anti-VEGF de la divulgación se une a VEGF y neutraliza la actividad de VEGF en un bioensayo (por ejemplo, proliferación o migración de EC) con un valor de IC_{50} de menos de 5×10^7 nM, menos de 10^7 nM, menos de 5×10^6 nM, menos de 10^6 nM, menos de 5×10^5 nM, menos de 10^5 nM, menos de 5×10^4 nM, menos de 10^4 nM, menos de 5×10^3 nM, menos de 10^3 nM, menos de 5×10^2 nM, menos de 100 nM, menos de 90 nM, menos de 80 nM, menos de 70 nM, menos de 65 nM, menos de 60 nM, menos de 50 nM, menos de 40 nM, menos de 30 nM, menos de 25 nM, menos de 20 nM, menos de 15 nM, menos de 12 nM, menos de 10 nM, menos de 5 nM, menos de 1 nM, menos de 5×10^{-1} nM, menos de 10^{-1} nM, menos de 5×10^{-2} nM, menos de 10^{-2} nM, menos de 5×10^{-3} nM, menos de

79

10^{-3} nM, menos de 5×10^{-4} nM, o menos de 10^{-4} nM, o con una IC_{50} en cualquier rango entre cualquier par de los valores anteriores (por ejemplo, 5×10^7 a 50 nM, o 15 nM a 5×10^{-3} nM).

Un ejemplo de un ensayo de neutralización que puede usarse para medir la IC_{50} de un anticuerpo anti-VEGF se describe en la Sección 6.3 más adelante.

En ciertas modalidades, un anticuerpo anti-VEGF se une a VEGF e inhibe la unión de VEGF a Flt-1, Flk-1 o ambos, o inhibe la actividad de VEGF en un ensayo de neutralización de VEGF, con un valor de IC_{50} de entre aproximadamente 1 pM y aproximadamente 1 μ M. En modalidades específicas, un anticuerpo anti-VEGF se une a VEGF e inhibe la unión de VEGF a Flt-1, Flk-1 o ambos, o inhibe la actividad de VEGF en un ensayo de neutralización de VEGF, con un valor de IC_{50} de entre 10 pM y 100 nM, entre 100 pM y 10 nM, entre 200 pM y 5 nM, entre 300 pM y 4 nM, entre 500 pM y 3 nM, entre 750 pM y 2 nM, entre 1 nM y 20 nM, entre 500 pM y 40 nM, entre 50 pM y 50 nM, entre 250 pM y 100 nM, y entre 100 nM y 1 μ M, o con una IC_{50} en cualquier rango entre cualquier par de los valores anteriores (por ejemplo, 10 pM a 50 nM, o 750 pM a 2 nM).

En ciertos aspectos de las modalidades anteriores, la IC_{50} se mide en presencia de VEGF a una concentración de 0,001 μ M, 0,005 μ M, 0,01 μ M, 0,05 μ M, 0,1 μ M, 0,5 μ M, 1 μ M, 10 μ M, 20 μ M, 30 μ M, 40 μ M, 50 μ M, 60 μ M, 70 μ M, 80 μ M, 90 μ M, 100 μ M, 200 μ M, 300 μ M, 400 μ M, 500 μ M, 600 μ M, 700 μ M, 800 μ M, 900 μ M, 1.000 μ M o a una concentración en cualquier rango entre cualquier par de los valores anteriores (por ejemplo, 0,01 a 50 μ M, o 10 μ M a 100 μ M).

En ciertas modalidades, las propiedades cinéticas de un anticuerpo de la divulgación son comparables a, o mejoradas con respecto a, bevacizumab o ranibizumab en un ensayo comparable. Por ejemplo, en ciertas modalidades, un anticuerpo anti-VEGF de la divulgación se une a VEGF con una velocidad k_{on} en el rango de aproximadamente 0,5x a 1.000x de la k_{on} de bevacizumab o de ranibizumab, por ejemplo una k_{on} de 0,5x de la k_{on} de bevacizumab o de ranibizumab, una k_{on} de 0,75x de la k_{on} de bevacizumab o de ranibizumab, una k_{on} de 0,9x de la k_{on} de bevacizumab o de ranibizumab, una k_{on} de 1x de la k_{on} de bevacizumab o de ranibizumab, una k_{on} de 1,1x de la k_{on} de bevacizumab o de ranibizumab, una k_{on} de 1,2x de la k_{on}

de bevacizumab o de ranibizumab, una k_{on} de 1,3x de la k_{on} de bevacizumab o de ranibizumab, una k_{on} de 1,4x de la k_{on} de bevacizumab o de ranibizumab, una k_{on} de 1,5x de la k_{on} de bevacizumab o de ranibizumab, una k_{on} de 1,75x de la k_{on} de bevacizumab o de ranibizumab, una k_{on} de 2x de la k_{on} de bevacizumab o de ranibizumab, una k_{on} de 2,25x de la k_{on} de bevacizumab o de ranibizumab, una k_{on} de 2,5x de la k_{on} de bevacizumab o de ranibizumab, una k_{on} de 3x de la k_{on} de bevacizumab o de ranibizumab, una k_{on} de 4x de la k_{on} de bevacizumab o de ranibizumab, una k_{on} de 5x de la k_{on} de bevacizumab o de ranibizumab, una k_{on} de 7,5x de la k_{on} de bevacizumab o de ranibizumab, una k_{on} de 10x de la k_{on} de bevacizumab o de ranibizumab, una k_{on} de 15x de la k_{on} de bevacizumab o de ranibizumab, una k_{on} de 20x de la k_{on} de bevacizumab o de ranibizumab, una k_{on} de 50x de la k_{on} de bevacizumab o de ranibizumab, una k_{on} de 75x de la k_{on} de bevacizumab o de ranibizumab, una k_{on} de 100x de la k_{on} de bevacizumab o de ranibizumab, una k_{on} de 150x de la k_{on} de bevacizumab o de ranibizumab, una k_{on} de 200x de la k_{on} de bevacizumab o de ranibizumab, una k_{on} de 200x de la k_{on} de bevacizumab o de ranibizumab o una k_{on} en un rango entre cualquier par de los valores anteriores, por ejemplo, una k_{on} de 2x-75x de la k_{on} de bevacizumab o de ranibizumab, una k_{on} de 5x-100x de la k_{on} de bevacizumab o de ranibizumab, una k_{on} de 0,5x-1.000x de la k_{on} de bevacizumab o de ranibizumab, una k_{on} de 0,75x-200x de la k_{on} de bevacizumab o de ranibizumab, etc.

En ciertas modalidades, un anticuerpo anti-VEGF de la divulgación se une a VEGF con una velocidad k_{off} en el rango de 0,001x a 3x de la k_{off} de bevacizumab o de ranibizumab, por ejemplo una k_{off} de 0,002x de la k_{off} de bevacizumab o de ranibizumab, una k_{off} de 0,005x de la k_{off} de bevacizumab o de ranibizumab, una k_{off} de 0,0075x de la k_{off} de bevacizumab o de ranibizumab, una k_{off} de 0,01x de la k_{off} de bevacizumab o de ranibizumab, una k_{off} de 0,025x de la k_{off} de bevacizumab o de ranibizumab, una k_{off} de 0,05x de la k_{off} de bevacizumab o de ranibizumab, una k_{off} de 0,075x de la k_{off} de bevacizumab o de ranibizumab, una k_{off} de 0,1x de la k_{off} de bevacizumab o de ranibizumab, una k_{off} de 0,25x de la k_{off} de bevacizumab o de ranibizumab, una k_{off} de 0,5x de la k_{off} de bevacizumab o de ranibizumab, una k_{off} de 0,75x de la k_{off} de bevacizumab o de ranibizumab, una k_{off} de 0,9x de la k_{off} de bevacizumab o de ranibizumab, una k_{off} de 1x de la k_{off} de bevacizumab o de ranibizumab, una

k_{off} de 1,1x de la k_{off} de bevacizumab o de ranibizumab, una k_{off} de 1,25x de la k_{off} de bevacizumab o de ranibizumab, una k_{off} de 1,5x de la k_{off} de bevacizumab o de ranibizumab, una k_{off} de 1,75x de la k_{off} de bevacizumab o de ranibizumab, una k_{off} de 4x de la k_{off} de bevacizumab o de ranibizumab, una k_{off} de 3x de la k_{off} de bevacizumab o de ranibizumab, una k_{off} de 2x de la k_{off} de bevacizumab o de ranibizumab, una k_{off} de 3x de la k_{off} de bevacizumab o de ranibizumab, o una k_{off} en un rango entre cualquier par de los valores anteriores, por ejemplo, una k_{off} de 0,01x a 1,1x de la k_{off} de bevacizumab o de ranibizumab, una k_{off} de 0,05x-1,25x de la k_{off} de bevacizumab o de ranibizumab, una k_{off} de 0,1x-0,9x de la k_{off} de bevacizumab o de ranibizumab, etc.

En otras modalidades, un anticuerpo anti-VEGF de la divulgación se une a VEGF con una K_A (k_{on}/k_{off}) en el rango de 0,25x a 1.000x de la K_A de bevacizumab o de ranibizumab, por ejemplo una K_A de 0,5x de la K_A de bevacizumab o de ranibizumab, una K_A de 0,75x de la K_A de bevacizumab o de ranibizumab, una K_A de 1x de la K_A de bevacizumab o de ranibizumab, una K_A de 2x de la K_A de bevacizumab o de ranibizumab, una K_A de 4x de la K_A de bevacizumab o de ranibizumab, una K_A de 10x de la K_A de bevacizumab o de ranibizumab, una K_A de 15x de la K_A de bevacizumab o de ranibizumab, una K_A de 20x de la K_A de bevacizumab o de ranibizumab, una K_A de 30x de la K_A de bevacizumab o de ranibizumab, una K_A de 40x de la K_A de bevacizumab o de ranibizumab, una K_A de 50x de la K_A de bevacizumab o de ranibizumab, una K_A de 100x de la K_A de bevacizumab o de ranibizumab, una K_A de 250x de la K_A de bevacizumab o de ranibizumab, una K_A de 500x de la K_A de bevacizumab o de ranibizumab, una K_A de 750x de la K_A de bevacizumab o de ranibizumab, una K_A de 1.000x de la K_A de bevacizumab o de ranibizumab o una K_A en un rango entre cualquier par de los valores anteriores, por ejemplo, una K_A de 0,75x-10 5x de la K_A de bevacizumab o de ranibizumab, una K_A de 1x-100x de la K_A de bevacizumab o de ranibizumab, una K_A de 10x-20x de la K_A de bevacizumab o de ranibizumab, una K_A de 4x-50x de la K_A de bevacizumab o de ranibizumab, una K_A de 2x-20x de la K_A de bevacizumab o de ranibizumab, o cualquier valor o rango que pueda ser calculado a partir de las velocidades k_{on} y k_{off} divulgadas aquí.

En otras modalidades, un anticuerpo anti-VEGF de la divulgación se une a VEGF con una K_D (k_{off}/k_{on}) en el rango de 0,001 x a 10x de la K_D de bevacizumab o de ranibizumab, por ejemplo una K_D de 0,001x de la K_D de bevacizumab o de ranibizumab, una K_D de 0,005x de la K_D de bevacizumab o de ranibizumab, una K_D de 0,01x de la K_D de bevacizumab o de ranibizumab, una K_D de 0,05x de la K_D de bevacizumab o de ranibizumab, una K_D de 0,075x de la K_D de bevacizumab o de ranibizumab, una K_D de 0,1x de la K_D de bevacizumab o de ranibizumab, una K_D de 0,2x de la K_D de bevacizumab o de ranibizumab, una K_D de 0,3x de la K_D de bevacizumab o de ranibizumab, una K_D de 0,4x de la K_D de bevacizumab o de ranibizumab, una K_D de 0,5x de la K_D de bevacizumab o de ranibizumab, una K_D de 0,6x de la K_D de bevacizumab o de ranibizumab, una K_D de 0,7x de la K_D de bevacizumab o de ranibizumab, una K_D de 0,8x de la K_D de bevacizumab o de ranibizumab, una K_D de 0,9x de la K_D de bevacizumab o de ranibizumab, una K_D de 1x de la K_D de bevacizumab o de ranibizumab, una K_D de 1,5x de la K_D de bevacizumab o de ranibizumab, una K_D de 2x de la K_D de bevacizumab o de ranibizumab, una K_D de 4x de la K_D de bevacizumab o de ranibizumab, una K_D de 7,5x de la K_D de bevacizumab o de ranibizumab, una K_D de 10x de la K_D de bevacizumab o de ranibizumab o una K_D en un rango entre cualquier par de los valores anteriores, por ejemplo, una K_D de 0,01x-2x de la K_D de bevacizumab o de ranibizumab, una K_D de 0,1x-1,5x de la K_D de bevacizumab o de ranibizumab, una K_D de 0,7x-4x de la K_D de bevacizumab o de ranibizumab, una K_D de 0,2x-2x de la K_D de bevacizumab o de ranibizumab, o cualquier valor o rango que pueda ser calculado a partir de las velocidades k_{on} y k_{off} divulgadas aquí.

En algunas modalidades, un anticuerpo anti-VEGF de la divulgación se une a VEGF e inhibe la unión de VEGF a Flt-1, Flk-1 o ambos, o neutraliza la actividad de VEGF con un valor de IC_{50} en el rango de 0,001x a 10x de la IC_{50} de bevacizumab o de ranibizumab, por ejemplo una IC_{50} de 0,001x de la IC_{50} de bevacizumab o de ranibizumab, una IC_{50} de 0,005x de la IC_{50} de bevacizumab o de ranibizumab, una IC_{50} de 0,01x de la IC_{50} de bevacizumab o de ranibizumab, una IC_{50} de 0,05x de la IC_{50} de bevacizumab o de ranibizumab, una IC_{50} de 0,075x de la IC_{50} de bevacizumab o de ranibizumab, una IC_{50} de 0,1x de la IC_{50} de bevacizumab o de ranibizumab, una IC_{50} de 0,2x de la IC_{50} de bevacizumab o de ranibizumab, una IC_{50} de 0,3x de

la IC₅₀ de bevacizumab o de ranibizumab, una IC₅₀ de 0,4x de la IC₅₀ de bevacizumab o de ranibizumab, una IC₅₀ de 0,5x de la IC₅₀ de bevacizumab o de ranibizumab, una IC₅₀ de 0,6x de la IC₅₀ de bevacizumab o de ranibizumab, una IC₅₀ de 0,7x de la IC₅₀ de bevacizumab o de ranibizumab, una IC₅₀ de 0,8x de la IC₅₀ de bevacizumab o de ranibizumab, una IC₅₀ de 0,9x de la IC₅₀ de bevacizumab o de ranibizumab, una IC₅₀ de 1x de la IC₅₀ de bevacizumab o de ranibizumab, una IC₅₀ de 1,5x de la IC₅₀ de bevacizumab o de ranibizumab, una IC₅₀ de 2x de la IC₅₀ de bevacizumab o de ranibizumab, una IC₅₀ de 4x de la IC₅₀ de bevacizumab o de ranibizumab, una IC₅₀ de 7,5x de la IC₅₀ de bevacizumab o de ranibizumab, una IC₅₀ de 10x de la IC₅₀ de bevacizumab o de ranibizumab, o una IC₅₀ en un rango entre cualquier par de los valores anteriores, por ejemplo, una IC₅₀ de 0,01x-2x de la IC₅₀ de bevacizumab o de ranibizumab, una IC₅₀ de 0,1x-1,5x de la IC₅₀ de bevacizumab o de ranibizumab, una IC₅₀ de 0,7x-4x de la IC₅₀ de bevacizumab o de ranibizumab, una IC₅₀ de 0,2x-2x de la IC₅₀ de bevacizumab o de ranibizumab. En ciertas modalidades, una sustitución única en una CDR puede resultar en las diferencias mencionadas más arriba en la IC₅₀ en comparación con bevacizumab o ranibizumab, aunque un anticuerpo anti-VEGF de la divulgación puede comprender esa sustitución y hasta 16 sustituciones adicionales en CDRs en comparación con bevacizumab o ranibizumab.

6.5 INMUNOGENICIDAD REDUCIDA DE ANTICUERPOS ANTI-VEGF

En ciertos aspectos, la presente divulgación proporciona anticuerpos anti-VEGF que tienen una inmunogenicidad reducida en comparación con bevacizumab o ranibizumab. La presente divulgación proporciona anticuerpos anti-VEGF que tienen sustituciones de amino ácidos únicas o múltiples en sus CDRs y/o regiones de armazón, en comparación con las CDRs de bevacizumab, donde al menos una sustitución reduce la inmunogenicidad del anticuerpo en comparación con bevacizumab o ranibizumab. En ciertas modalidades, la inmunogenicidad reducida es el resultado de una o más sustituciones de amino ácidos que resultan en la eliminación o mitigación de uno o más epítopos de células T.

En ciertos aspectos, los anticuerpos anti-VEGF de la divulgación que tienen una inmunogenicidad reducida, tienen una actividad biológica comparable o mejorada en

comparación con bevacizumab o ranibizumab, por ejemplo, afinidad hacia VEGF o neutralización de la actividad de VEGF. Estas propiedades pueden determinarse, por ejemplo, mediante los métodos descritos en la Sección 6.3 más arriba.

En ciertas modalidades, la inmunogenicidad de un anticuerpo anti-VEGF de la divulgación es reducida con respecto al anticuerpo bevacizumab o ranibizumab. Estos anticuerpos generalmente tienen secuencias variantes con respecto a la región variable de la cadena pesada y/o liviana en regiones correspondientes a SEQ ID NO:25, SEQ ID NO:62 y/o SEQ ID NO:74. Los anticuerpos generalmente tendrán una, dos o tres sustituciones de amino ácidos en una, dos o las tres secuencias correspondientes a SEQ ID NO:25, SEQ ID NO:62 y SEQ ID NO:74, a pesar de que hasta cuatro o cinco sustituciones en una, dos o las tres regiones se contemplan aquí.

Como se usa en la presente divulgación, una variante con "inmunogenicidad reducida" se refiere a un anticuerpo anti-VEGF con una secuencia variante en una región correspondiente a SEQ ID NO:25, SEQ ID NO:62 y/o SEQ ID NO:74 que produce una respuesta proliferativa reducida en células mononucleares de sangre periférica, en comparación con un péptido de SEQ ID NO:25, SEQ ID NO:62 o SEQ ID NO:74, respectivamente. Un ejemplo de un ensayo de proliferación que puede usarse para evaluar la respuesta proliferativa se presenta en la Sección 7 más adelante. La respuesta proliferativa reducida puede reflejarse en términos del porcentaje de respondedores, el índice de estimulación o ambos.

En otras modalidades, en comparación con un péptido que tiene la secuencia de SEQ ID NO:25, SEQ ID NO:62 o SEQ ID NO:74, la secuencia variante resulta en al menos 25% de menor número de respondedores, en al menos 30% de menor número de respondedores, en al menos 35% de menor número de respondedores, en al menos 40% de menor número de respondedores, en al menos 45% de menor número de respondedores, en al menos 50% de menor número de respondedores, en al menos 60% de menor número de respondedores, en al menos 65% de menor número de respondedores, en al menos 70% de menor número de respondedores, en al menos 75% de menor número de respondedores, en al menos 80% de menor número de respondedores, en al menos 85% de menor número de respondedores, en al menos 90% de menor

número de respondedores, en al menos 95% de menor número de respondedores, 100% de menor número de respondedores, o una reducción en el número de respondedores en un rango entre cualquiera de los valores anteriores, por ejemplo, 25%-75% de menor número de respondedores, 50%-90% de menor número de respondedores, 60%-100% de menor número de respondedores, 70%-90% de menor número de respondedores, o similar.

En otras modalidades, la secuencia variante da como resultado un índice de estimulación que es al menos 5% menor, al menos 10% menor, al menos 15% menor, al menos 20% menor, al menos 25% menor, al menos 30% menor, al menos 35% menor, o al menos 40% menor que el índice de estimulación producido por un péptido de SEQ ID NO:25, SEQ ID NO:62 o SEQ ID NO:74, respectivamente, o da como resultado un índice de estimulación reducido en un rango entre cualquiera de los valores anteriores, en comparación con un péptido de SEQ ID NO:25, SEQ ID NO:62 o SEQ ID NO:74, por ejemplo, 5%-20% menor, 10%-30% menor, 25%-35% menor, 30%-40% menor, o similar.

Ejemplos de modalidades de anticuerpos anti-VEGF candidatos con inmunogenicidad reducida en comparación con bevacizumab o ranibizumab comprenden una o más de las sustituciones o combinaciones de sustituciones en las CDRs presentadas en la Tabla 6. Opcionalmente, los anticuerpos anti-VEGF con inmunogenicidad reducida en comparación con bevacizumab o ranibizumab comprenden una o más sustituciones adicionales, tales como las mutaciones en las CDRs de cualquiera de las Tablas 7-13, ya sean simples o en combinación.

Otros ejemplos de modalidades de anticuerpos anti-VEGF candidatos con inmunogenicidad reducida en comparación con bevacizumab o ranibizumab comprenden una o más de las sustituciones o combinaciones de sustituciones en las CDRs presentadas en las Tablas 14-16. Algunas modalidades preferidas de anticuerpos anti-VEGF con inmunogenicidad reducida en comparación con bevacizumab o ranibizumab se proporcionan en la Tabla 19.

6.6 CONJUGADOS DE ANTICUERPOS

Los anticuerpos anti-VEGF de la divulgación incluyen conjugados de anticuerpos que son modificados, por ejemplo, por la adhesión covalente de cualquier tipo de molécula al anticuerpo, de manera tal que la adhesión covalente no interfiera con la unión a VEGF.

En ciertos aspectos, un anticuerpo anti-VEGF de la divulgación puede ser conjugado a una especie efectora o a un marcador. El término "especie efectora" como se usa aquí incluye, por ejemplo, agentes antineoplásicos, fármacos, toxinas, proteínas biológicamente activas, por ejemplo enzimas, otros anticuerpos o fragmentos de anticuerpos, polímeros sintéticos o que existen en la naturaleza, ácidos nucleicos (por ejemplo, ADN y ARN), radionúclidos, particularmente radioyoduro, radioisótopos, metales quelados, nanopartículas y grupos reporteros tales como compuestos fluorescentes o compuestos que pueden ser detectados por espectroscopía NMR o ESR.

En un ejemplo, los anticuerpos anti-VEGF pueden ser conjugados a una especie efectora, tal como un agente citotóxico, un radionúclido o una especie farmacológica para modificar una respuesta biológica dada. La especie efectora puede ser una proteína o polipéptido, por ejemplo y sin limitación, una toxina (tal como abrina, ricina A, exotoxina de *Pseudomonas* o toxina de *Diphtheria*), una molécula de señalización (tal como interferón α , interferón β , factor de crecimiento nervioso, factor de crecimiento derivado de las plaquetas o activador tisular del plasminógeno), un agente trombótico o un agente antiangiogénico (por ejemplo, angiostatina o endostatina) o un modificador de una respuesta biológica tal como una citoquina o un factor de crecimiento (por ejemplo, interleuquina 1 (IL-1), interleuquina 2 (IL-2), interleuquina 6 (IL-6), factor estimulante de colonias de granulocitos macrófagos (GM-CSF), factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF) o factor de crecimiento nervioso (NGF)).

En otro ejemplo, las especies efectoras pueden ser citotoxinas o agentes citotóxicos. Los ejemplos de citotoxinas y agentes citotóxicos incluyen taxol, citocalasina B, gramicidina D, bromuro de etidio, emetina, mitomicina, etopósido, tenopósido, vincristina, vinblastina, colchicina, doxorubicina, daunorubicina, dihidroxiantracinaadiona, mitoxantrona, mitramicina, actinomicina D, 1-dehidrotestosterona, glucocorticoides, procaína, tetracaína, lidocaína, propranolol y puromicina y sus análogos u homólogos.

Las especies efectoras también incluyen, pero no están limitadas a, antimetabolitos (por ejemplo metotrexato, 6-mercaptopurina, 6-tioguanina, citarabina, 5-fluorouracilo, dacarbazina), agentes alquilantes (por ejemplo, mecloretamina, tiotepa, clorambucil, melfalán, carmustina (BSNU) y lomustina (CCNU), ciclofosfamida, busulfán, dibromomanitol, estreptozotocina, mitomicina C5 y cis-diclorodiamina de platino (II) (DDP) cisplatino), antraciclinas (por ejemplo daunorrubicina (anteriormente daunomicina) y doxorubicina), antibióticos (por ejemplo dactinomicina (anteriormente actinomicina), bleomicina, mitramicina, antramicina (AMC), calicheamicinas o duocarmicinas) y agentes antimitóticos (por ejemplo, vincristina y vinblastina).

Otras especies efectoras pueden incluir radionúclidos tales como, pero no limitados a, ^{111}In y ^{90}Y , Lu^{177} , Bismuto 213 , Californio 252 , Iridio 192 y Tungsteno 188 /Renio 188 y fármacos tales como, pero no limitados a, alquilfosfocolinas, inhibidores de topoisomerasa I, taxoides y suramina.

Las técnicas para conjugar estas especies efectoras a anticuerpos son bien conocidas en el arte (véase por ejemplo, Hellstrom *et al.*, Controlled Drug Delivery, 2nd Ed., en pp. 623-53 (Robinson *et al.*, eds., 1987)); Thorpe *et al.*, 1982, Immunol. Rev. 62:119-58 y Dubowchik *et al.*, 1999, Pharmacology and Therapeutics 83:67-123).

En un ejemplo, el anticuerpo anti-VEGF o fragmento del mismo es fusionado mediante un enlace covalente (por ejemplo, un enlace peptídico), a través del terminal N o el terminal C del anticuerpo o internamente, a una secuencia de amino ácidos de otra proteína (o porción de la misma; por ejemplo, una porción de la proteína de al menos 10, 20 ó 50 amino ácidos). El anticuerpo o fragmento del mismo puede ser enlazado a la otra proteína en el terminal N del dominio constante del anticuerpo. Procedimientos de ADN recombinante pueden usarse para crear estas fusiones, por ejemplo como se describe en la patente WO 86/01533 y la patente europea EP 0392745. En otro ejemplo, la molécula efectora puede aumentar la vida media *in vivo* y/o aumentar la entrega de un anticuerpo al sistema inmune a través de una barrera epitelial. Los ejemplos de moléculas efectoras adecuadas de este tipo incluyen polímeros, albúmina,

proteínas que se unen a albúmina o compuestos que se unen a albúmina, tales como los descritos en la patente WO 2005/117984.

En ciertos aspectos, un anticuerpo anti-VEGF es conjugado a una toxina de molécula pequeña. En ciertas modalidades de ejemplo, un anticuerpo anti-VEGF de la divulgación es conjugado a una dolastatina o análogos peptídicos o derivados de dolastatina, por ejemplo una auristatina (patentes norteamericanas US números 5.635.483 y 5.780.588). La especie farmacológica dolastatina o auristatina puede ser adherida al anticuerpo a través de su terminal N (amino), su terminal C (carboxilo) o internamente (patente WO 02/088172). Modalidades de ejemplo de auristatinas incluyen las especies farmacológicas monometilauristatinas DE y DF enlazadas al terminal N, divulgadas en la patente norteamericana US N° 7.498.298 que se incorpora aquí por referencia en su totalidad (que divulga, por ejemplo, enlazadores y métodos para preparar compuestos de monometilvalina tales como MMAE y MMAF conjugados a enlazadores).

En otras modalidades de ejemplo, las toxinas de molécula pequeña incluyen, pero no están limitadas a, calicheamicina, maitansina (patente norteamericana U.S. N° 5.208.020), tricoteno y CC1065. En una modalidad de la divulgación, el anticuerpo es conjugado a una o más moléculas de maitansina (por ejemplo, alrededor de 1 a alrededor de 10 moléculas de maitansina por molécula de anticuerpo). Por ejemplo, la maitansina puede ser convertida en May-SS-Me, que puede ser reducida a May-SH3 y se hace reaccionar con un anticuerpo (Chari *et al.*, 1992, Cancer Research 52: 127-131) para generar un conjugado maitansinoide-anticuerpo o conjugado de fusión maitansinoide-Fc. Los análogos estructurales de calicheamicina que también pueden usarse incluyen, pero no están limitados a, γ_1^I , γ_3^I , N-acetyl- γ_1^I , PSAG y θ_1^I (Hinman *et al.*, 1993, Cancer Research 53:3336-3342; Lode *et al.*, 1998, Cancer Research 58:2925-2928; patente norteamericana US N° 5.714.586; patente norteamericana US N° 5.712.374; patente norteamericana US N° 5.264.586; patente norteamericana US N° 5.773.001).

Los anticuerpos de la divulgación también pueden ser conjugados a liposomas para una entrega direccionada (véase por ejemplo, Park *et al.*, 1997, Adv. Pharmacol. 40:399-435; Marty & Schwendener, 2004, Methods in Molecular Medicine 109:389-401).

En un ejemplo, los anticuerpos de la presente divulgación pueden ser adheridos a especies poli(etilenglicoles) (PEG). En un ejemplo particular, el anticuerpo es un fragmento de anticuerpo y las especies PEG pueden ser adheridas a través de cualquier cadena lateral de amino ácido disponible o grupo funcional de amino ácido terminal ubicado en el fragmento de anticuerpo, por ejemplo cualquier grupo libre amino, imino, tiol, hidroxilo o carboxilo. Estos amino ácidos pueden existir naturalmente en el fragmento de anticuerpo o pueden ser introducidos por ingeniería genética en el fragmento usando métodos de ADN recombinante. Véase por ejemplo, la patente norteamericana US N° 5.219.996. Múltiples sitios pueden usarse para adherir dos o más moléculas de PEG. Las especies PEG pueden ser enlazadas en forma covalente a través de un grupo tiol de al menos un residuo cisteína ubicado en el fragmento de anticuerpo. Cuando se usa un grupo tiol como punto de adhesión, pueden usarse especies efectoras apropiadamente activadas, por ejemplo, derivados selectivos de tiol tales como maleimidas y derivados de cisteína.

En un ejemplo específico, un conjugado de anticuerpo anti-VEGF es un fragmento Fab' modificado que es PEGuilado, o sea, tiene PEG (poli(etilenglicol)) enlazado en forma covalente al mismo, por ejemplo, de acuerdo con el método divulgado en la patente europea EP 0948544. Véase también Poly(ethyleneglycol) Chemistry, Biotechnical and Biomedical Applications (J. Milton Harris (ed.), Plenum Press, New York, 1992); Poly(ethyleneglycol) Chemistry and Biological Applications, (J. Milton Harris and S. Zalipsky, eds., American Chemical Society, Washington D.C., 1997); Bioconjugation Protein Coupling Techniques for the Biomedical Sciences (M. Aslam and A. Dent, eds., Grove Publishers, New York, 1998); y Chapman, 2002, Advanced Drug Delivery Reviews 54:531-545. El PEG puede ser enlazado a una cisteína en la región de bisagra. En un ejemplo, un fragmento Fab' modificado con PEG tiene un grupo maleimida enlazado en forma covalente a un grupo tiol único en una región de bisagra modificada. Un residuo lisina puede ser enlazado en forma covalente al grupo maleimida, y a cada uno de los grupos amina en el residuo lisina, puede adherirse un polímero de metoxipoli(etilenglicol) que tiene un peso molecular de aproximadamente 20.000 Da. Por lo

tanto, el peso molecular total del PEG adherido al fragmento Fab' puede ser de aproximadamente 40.000 Da.

La palabra "marcador", cuando se usa aquí, se refiere a un compuesto o composición detectable que puede ser conjugado directa o indirectamente a un anticuerpo anti-VEGF de la divulgación. El marcador mismo puede ser detectable (por ejemplo, marcadores radioisótopos o marcadores fluorescentes) o, en el caso de un marcador enzimático, puede catalizar una alteración química de un compuesto o composición sustrato que es detectable. Las especies fluorescentes útiles incluyen, pero no están limitadas a, fluoresceína, isotiocianato de fluoresceína, rodamina, cloruro de 5-dimetilamina-1-naftalenosulfonilo, ficoeritrina y similares. Los marcadores enzimáticos útiles incluyen, pero no están limitados a, fosfatasa alcalina, peroxidasa de rábano picante, glucosa oxidasa y similares.

Conjugados de anticuerpos anti-VEGF adicionales que son útiles, entre otras cosas, para propósitos de diagnóstico, se describen en la Sección 6.7 que sigue.

6.7 USOS DIAGNÓSTICOS DE LOS ANTICUERPOS ANTI-VEGF

Los anticuerpos anti-VEGF de la divulgación, incluyendo aquellos anticuerpos que han sido modificados, por ejemplo por biotilación, peroxidasa de rábano picante o cualquier otra especie detectable (incluyendo las descritas en la Sección 6.6), pueden usarse convenientemente para propósitos de diagnóstico.

En particular, los anticuerpos anti-VEGF pueden usarse, por ejemplo pero sin limitación, para purificar o detectar VEGF, incluyendo métodos de diagnóstico tanto *in vitro* como *in vivo*. Por ejemplo, los anticuerpos son útiles en inmunoensayos para medir, cualitativa y cuantitativamente, niveles de VEGF en muestras biológicas. Véase por ejemplo, Harlow *et al.*, *Antibodies: A Laboratory Manual*, Second Edition (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1988), que se incorpora aquí por referencia en su totalidad.

La presente divulgación comprende además anticuerpos o fragmentos de los mismos conjugados a un agente de diagnóstico. Los anticuerpos pueden usarse en diagnóstico, por ejemplo para detectar la expresión de un blanco de interés en células, tejidos o sueros

específicos; o para monitorear el desarrollo o progresión de una respuesta inmunológica como parte de un procedimiento de pruebas clínicas, por ejemplo para determinar la eficacia de un régimen de tratamiento dado. La detección puede facilitarse acoplando el anticuerpo a una sustancia detectable. Los ejemplos de sustancias detectables incluyen diversas enzimas, grupos protésicos, materiales fluorescentes, materiales luminiscentes, materiales bioluminiscentes, materiales radioactivos, metales que emiten positrones usando diversas tomografías de emisión de positrones, y iones metálicos paramagnéticos no radioactivos. La sustancia detectable puede ser acoplada o conjugada ya sea directamente al anticuerpo (o fragmento del mismo) o indirectamente a través de un intermediario (por ejemplo, un enlazador conocido en el arte), usando técnicas conocidas en el arte. Los ejemplos de marcadores enzimáticos incluyen luciferasas (por ejemplo, luciferasa de luciérnaga y luciferasa bacteriana; patente norteamericana US N° 4.737.456), luciferina, 2,3-dihidroftalazinadionas, malato deshidrogenasa, ureasa, peroxidasa tal como peroxidasa de rábano picante (HRPO), fosfatasa alcalina, β -galactosidasa, acetilcolinesterasa, glucoamilasa, lisozima, sacárido oxidasas (por ejemplo, glucosa oxidasa, galactosa oxidasa y glucosa-6-fosfato deshidrogenasa), oxidasas heterocíclicas (tales como uricasa y xantina oxidasa), lactoperoxidasa, microperoxidasa y similares. Los ejemplos de complejos de grupos protésicos adecuados incluyen estreptavidina/biotina y avidina/biotina; los ejemplos de materiales fluorescentes adecuados incluyen umbeliferona, fluoresceína, isotiocianato de fluoresceína, rodamina, diclorotriazinilamina fluoresceína, cloruro de dansil o ficoeritrina; un ejemplo de un material luminiscente incluye luminol; los ejemplos de materiales bioluminiscentes incluyen luciferasa, luciferina y ecuorina; y los ejemplos de materiales radioactivos adecuados incluyen ^{125}I , ^{131}I , ^{111}In o ^{99}Tc .

La divulgación provee la detección de la expresión de VEGF, que comprende contactar una muestra biológica (células, tejido o fluido corporal de un individuo) usando uno o más anticuerpos anti-VEGF de la divulgación (opcionalmente conjugados a una especie detectable), y detectar si la muestra es o no positiva para la expresión de VEGF, o si la muestra tiene una expresión alterada (por ejemplo, reducida o aumentada) en comparación con una muestra de control.

Las enfermedades que pueden ser diagnosticadas usando los presentes métodos incluyen, pero no están limitadas a, las enfermedades descritas aquí. En ciertas modalidades, el tejido o fluido corporal es sangre periférica, leucocitos de sangre periférica, tejidos para biopsias, tales como biopsias de pulmón o piel, y tejido.

6.8 MÉTODOS TERAPÉUTICOS QUE USAN ANTICUERPOS ANTI-VEGF

6.8.1 Beneficios clínicos

Los anticuerpos anti-VEGF de la divulgación pueden usarse para tratar diversos neoplasmas o condiciones no neoplásicas caracterizadas por angiogénesis patológica.

Los anticuerpos de la divulgación son útiles en el tratamiento de tumores en los cuales la angiogénesis tiene un rol importante en el crecimiento tumoral, incluyendo cánceres y tumores benignos. Los ejemplos de cánceres que serán tratados aquí incluyen, pero no están limitados a, carcinoma, linfoma, blastoma, sarcoma y leucemia. Ejemplos más particulares de estos cánceres incluyen cáncer de células escamosas, cáncer de pulmón (incluyendo cáncer de pulmón de células pequeñas, cáncer de pulmón de células no pequeñas, adenocarcinoma del pulmón y carcinoma escamoso del pulmón), cáncer del peritoneo, cáncer hepatocelular, cáncer gástrico o de estómago (incluyendo cáncer gastrointestinal), cáncer pancreático, glioblastoma, cáncer cervical, cáncer de ovario, cáncer de hígado, cáncer de vejiga, hepatoma, cáncer de mama, cáncer de colon, cáncer colorrectal, carcinoma endometrial o uterino, carcinoma de la glándula salival, cáncer de riñón o renal, cáncer de hígado, cáncer de próstata, cáncer vulvar, cáncer de tiroides, carcinoma hepático y diversos tipos de cáncer de cabeza y cuello, y también linfoma de células B (incluyendo linfoma no Hodgkin (LNH) folicular de grado bajo; linfocítico pequeño (LP); LNH folicular de grado intermedio; LNH difuso de grado intermedio; LNH inmunoblástico de grado alto; LNH linfoblástico de grado alto; LNH de células pequeñas no escindidas de grado alto; LNH de masa abultada ("bulky"); linfoma de células del manto; linfoma relacionado con SIDA; y macroglobulinemia de Waldenstrom); leucemia linfocítica crónica (LLC); leucemia linfoblástica aguda (LLA); leucemia de células peludas; leucemia mieloblástica crónica; y trastorno linfoproliferativo post-trasplante (TLPT), y también proliferación vascular anormal

asociada con facomatosis, edema (tal como el asociado con tumores cerebrales) y síndrome de Meigs. Más particularmente, los cánceres que son receptivos al tratamiento con los anticuerpos de la divulgación incluyen cáncer de mama, cáncer colorrectal, cáncer rectal, cáncer de pulmón de células no pequeñas, linfoma no Hodgkin (LNH), cáncer de células renales, cáncer de próstata, cáncer de hígado, cáncer pancreático, sarcoma de tejidos blandos, sarcoma de Kaposi, carcinoma carcinoide, cáncer de cabeza y cuello, melanoma, cáncer de ovario, mesotelioma y mieloma múltiple. En algunas modalidades, los anticuerpos anti-VEGF de la divulgación se usan para tratar el cáncer colorrectal en un paciente humano.

La presente divulgación abarca terapia antiangiogénica, una estrategia de tratamiento del cáncer que apunta a inhibir el desarrollo de los vasos sanguíneos del tumor requeridos para proporcionar nutrientes para sustentar el crecimiento tumoral. Debido a que la angiogénesis está involucrada tanto en el crecimiento del tumor primario como en la metástasis, el tratamiento antiangiogénico proporcionado por la divulgación es capaz de inhibir el crecimiento neoplásico del tumor en el sitio primario y también prevenir la metástasis de los tumores en los sitios secundarios.

Las condiciones no neoplásicas que son receptivas al tratamiento con los anticuerpos de la divulgación incluyen enfermedades retinianas (por ejemplo, degeneración macular relacionada con la edad) y enfermedades inmunes e inflamatorias (por ejemplo, artritis reumatoide, psoriasis, aterosclerosis, retinopatía diabética y otras retinopatías proliferativas incluyendo retinopatía del prematuro, fibroplasia retrolenticular, glaucoma neovascular, degeneración macular relacionada con la edad, hiperplasias tiroideas (incluyendo enfermedad de Grave), trasplante de córnea y de otros tejidos, inflamación crónica, inflamación pulmonar, síndrome nefrótico, preeclampsia, ascitis, efusión pericárdica (tal como aquella asociada con pericarditis) y efusión pleural).

En consecuencia, la presente divulgación proporciona métodos para tratar cualquiera de las enfermedades anteriores en un paciente que lo necesita, que comprenden: administrar al paciente un anticuerpo anti-VEGF de la divulgación. Opcionalmente, dicha administración se repite, por ejemplo, después de un día, dos días, tres días, cinco días, una

semana, dos semanas, tres semanas, un mes, cinco semanas, seis semanas, siete semanas, ocho semanas, dos meses o tres meses. La administración repetida puede ser a la misma dosis o a una dosis diferente. La administración puede repetirse una vez, dos veces, tres veces, cuatro veces, cinco veces, seis veces, siete veces, ocho veces, nueve veces, diez veces o más. Por ejemplo, de acuerdo con ciertos regímenes de dosificación, un paciente recibe terapia anti-VEGF por un período de tiempo prolongado, por ejemplo 6 meses, 1 año o más. La cantidad de anticuerpo anti-VEGF administrada al paciente en ciertas modalidades es una cantidad terapéuticamente eficaz. Como se usa aquí, una cantidad "terapéuticamente eficaz" de anticuerpo contra VEGF puede ser administrada como una dosis única o en el curso de un régimen terapéutico, por ejemplo en el curso de una semana, dos semanas, tres semanas, un mes, tres meses, seis meses, un año o más tiempo. Ejemplos de regímenes terapéuticos se describen en la Sección 6.11 más adelante.

De acuerdo con la presente divulgación, el tratamiento de una enfermedad incluye tratar a pacientes ya diagnosticados como que tienen cualquier forma de la enfermedad en cualquier etapa o manifestación clínica; retardar la aparición o evolución o el agravamiento o deterioro de los síntomas o signos de la enfermedad; y/o prevenir y/o reducir la gravedad de la enfermedad.

Un "sujeto" o "paciente" a quien se administra el anticuerpo anti-VEGF de la divulgación preferentemente es un mamífero, tal como un no primate (por ejemplo, vaca, cerdo, caballo, gato, perro, rata, etc.) o un primate (por ejemplo, mono o humano). En ciertas modalidades, el sujeto o paciente es un ser humano. En ciertos aspectos, el ser humano es un paciente pediátrico. En otros aspectos, el ser humano es un paciente adulto.

6.9 COMPOSICIONES FARMACÉUTICAS Y VÍAS DE ADMINISTRACIÓN

Se proporcionan aquí composiciones que comprenden un anticuerpo anti-VEGF de la divulgación y, opcionalmente, uno o más agentes terapéuticos adicionales, tales como los agentes terapéuticos de combinación que se describen en la Sección 6.10 más adelante. Las composiciones habitualmente serán suministradas como parte de una composición farmacéutica

estéril que normalmente incluirá un vehículo farmacéuticamente aceptable. Esta composición puede estar en cualquier forma adecuada (dependiendo del método deseado para administrarla a un paciente).

Los anticuerpos anti-VEGF de la divulgación pueden administrarse a un paciente por una variedad de vías tal como por vía oral, transdérmica, subcutánea, intranasal, intravenosa, intramuscular, intraocular, tópica, intratecal e intracerebroventricular. La vía más adecuada para la administración, en cualquier caso dado, dependerá del anticuerpo particular, del sujeto, de la naturaleza y gravedad de la enfermedad y de la condición física del sujeto.

Para el tratamiento de indicaciones distintas de las enfermedades retinianas, la dosis eficaz de un anticuerpo anti-VEGF de la divulgación puede estar en el rango de alrededor de 0,1 a alrededor de 75 mg/kg por administración única (por ejemplo, un bolo), administraciones múltiples o administración continua, o para lograr una concentración sérica de 0,01-5.000 µg/ml por administración única (por ejemplo, un bolo), administraciones múltiples o administración continua, o cualquier rango eficaz o valor dentro del mismo, dependiendo de la condición que está siendo tratada, la vía de administración y la edad, peso y condición del sujeto. En ciertas modalidades, por ejemplo para el tratamiento del cáncer, cada dosis puede estar en el rango de alrededor de 0,1 mg a alrededor de 50 mg por kilogramo de peso corporal, por ejemplo de alrededor de 3 mg a alrededor de 25 mg por kilogramo de peso corporal. El anticuerpo puede ser formulado como una solución acuosa y administrado por inyección subcutánea.

Para el tratamiento de enfermedades retinianas (por ejemplo, degeneración macular relacionada con la edad (DME)), la dosificación convenientemente da como resultado una concentración en el humor acuoso del anticuerpo anti-VEGF en el ojo inyectado de 1-50 µg/ml. Para el tratamiento de DME, cada dosis puede ser de 0,1 mg a alrededor de 1 mg, por ejemplo de alrededor de 0,25 a alrededor de 0,5 mg. El anticuerpo puede ser formulado como una solución acuosa y administrado por inyección intravítrea.

Las composiciones farmacéuticas pueden ser presentadas convenientemente en formas de dosis unitarias que contienen una cantidad predeterminada de un anticuerpo anti-VEGF de la divulgación por dosis. Esta unidad puede contener, por ejemplo pero sin

limitación, de 0,1 mg a 5 g, por ejemplo de 1 mg a 1 g, o de 10 a 50 mg. Los vehículos farmacéuticamente aceptables para el uso en la divulgación pueden tomar una amplia variedad de formas dependiendo, por ejemplo, de la condición que será tratada o de la vía de administración.

Las formulaciones terapéuticas de los anticuerpos anti-VEGF de la divulgación pueden prepararse para el almacenamiento como formulaciones liofilizadas o soluciones acuosas, mezclando el anticuerpo que tiene el grado de pureza deseado con vehículos, excipientes o estabilizadores farmacéuticamente aceptables opcionales típicamente empleados en la técnica (todos los cuales se denominan aquí "vehículos"), o sea, agentes tamponantes, agentes estabilizadores, preservantes, isotonicadores, detergentes no iónicos, antioxidantes y otros aditivos misceláneos. Véase Remington's Pharmaceutical Sciences, 16th edition (Osol, ed. 1980). Estos aditivos deben ser no tóxicos para los sujetos receptores a las dosificaciones y concentraciones empleadas.

Los agentes tamponantes ayudan a mantener el pH en el rango que se aproxima a las condiciones fisiológicas. Pueden estar presentes a una concentración en el rango de alrededor de 2 mM a alrededor de 50 mM. Los agentes tamponantes adecuados para el uso con la presente divulgación incluyen tanto ácidos orgánicos como inorgánicos y sales de los mismos, tales como tampones de citrato (por ejemplo, mezcla de citrato monosódico-citrato disódico, mezcla de ácido cítrico-citrato trisódico, mezcla de ácido cítrico-citrato monosódico, etc.), tampones de succinato (por ejemplo, mezcla de ácido succínico-succinato monosódico, mezcla de ácido succínico-hidróxido de sodio, mezcla de ácido succínico-succinato disódico, etc.), tampones de tartrato (por ejemplo, mezcla de ácido tartárico-tartrato de sodio, mezcla de ácido tartárico-tartrato de potasio, mezcla de ácido tartárico-hidróxido de sodio, etc.), tampones de fumarato (por ejemplo, mezcla de ácido fumárico-fumarato monosódico, mezcla de ácido fumárico-fumarato disódico, mezcla de fumarato monosódico-fumarato disódico, etc.), tampones de gluconato (por ejemplo, mezcla de ácido glucónico-gluconato de sodio, mezcla de ácido glucónico-hidróxido de sodio, mezcla de ácido glucónico-gluconato de potasio, etc.), tampones de oxalato (por ejemplo, mezcla de ácido oxálico-oxalato de sodio, mezcla de ácido oxálico-hidróxido de sodio, mezcla de ácido oxálico-oxalato de potasio, etc.), tampones de lactato (por ejemplo, mezcla de ácido láctico-lactato de

sodio, mezcla de ácido láctico-hidróxido de sodio, mezcla de ácido láctico-lactato de potasio, etc.) y tampones de acetato (por ejemplo, mezcla de ácido acético-acetato de sodio, mezcla de ácido acético-hidróxido de sodio, etc.). Adicionalmente, pueden usarse tampones de fosfato, tampones de histidina y sales de trimetilamina tal como Tris.

Pueden añadirse preservantes para retardar el crecimiento microbiano, y pueden añadirse en cantidades en el rango de 0,2%-1% (p/v). Los preservantes adecuados para el uso con la presente divulgación incluyen fenol, alcohol bencílico, meta-cresol, metilparabeno, propilparabeno, cloruro de octadecil-dimetilbencilamonio, haluros (por ejemplo, cloruro, bromuro y yoduro) de benzalconio, cloruro de hexametonio, y alquil parabenos tales como metil- o propilparabeno, catecol, resorcinol, ciclohexanol y 3-pentanol. Los isotonicadores, a veces conocidos como "estabilizadores", pueden añadirse para asegurar la isotonicidad de las composiciones líquidas de la presente divulgación, e incluyen alcoholes de azúcares polihídricos, por ejemplo alcoholes de azúcares trihídricos o superiores, tales como glicerina, eritritol, arabitól, xilitol, sorbitol y manitol. Los estabilizadores se refieren a una amplia categoría de excipientes que pueden tener una gama de funciones, desde un agente de volumen hasta un aditivo que solubiliza el agente terapéutico o ayuda a impedir la desnaturalización o la adherencia a la pared del recipiente. Los estabilizadores típicos pueden ser alcoholes de azúcares polihídricos (enumerados más arriba); amino ácidos tales como arginina, lisina, glicina, glutamina, asparagina, histidina, alanina, ornitina, L-leucina, 2-fenilalanina, ácido glutámico, treonina, etc., azúcares orgánicas o alcoholes de azúcares, tales como lactosa, trehalosa, estaquiosa, manitol, sorbitol, xilitol, ribitol, mioinisol, galactitol, glicerol y similares, incluyendo ciclitóles tal como inositol; polietilenglicol; polímeros de amino ácidos; agentes reductores que contienen azufre, tales como urea, glutatión, ácido tióctico, tioglicolato de sodio, tioglicerol, α -monotioglicerol y tiosulfato de sodio; polipéptidos de bajo peso molecular (por ejemplo, péptidos de 10 residuos o menos); proteínas tales como albúmina sérica humana, albúmina sérica de bovino, gelatina o inmunoglobulinas; polímeros hidrofílicos tal como polivinilpirrolidona; monosacáridos tales como xilosa, manosa, fructosa, glucosa; disacáridos tales como lactosa, maltosa, sacarosa;

trisacáridos tal como rafinosa; y polisacáridos tal como dextrano. Los estabilizadores pueden estar presentes en el rango de 0,1 a 10.000 partes en peso por parte en peso de proteína activa.

Los tensoactivos o detergentes no iónicos (también conocidos como "agentes humectantes") pueden añadirse para ayudar a solubilizar el agente terapéutico y también para proteger a la proteína terapéutica contra la agregación inducida por agitación, lo que también permite que la formulación sea expuesta a esfuerzo de corte superficial sin causar la desnaturalización de la proteína. Los tensoactivos no iónicos adecuados incluyen polisorbatos (20, 80, etc.), polioxámeros (184, 188, etc.), polioles Pluronic, monoéteres de polioxietileno sorbitán (TWEEN®-20, TWEEN®-80, etc.). Los tensoactivos no iónicos pueden estar presentes en un rango de alrededor de 0,05 mg/ml a alrededor de 1,0 mg/ml, por ejemplo de alrededor de 0,07 mg/ml a alrededor de 0,2 mg/ml.

Excipientes misceláneos adicionales incluyen agentes de volumen (por ejemplo, almidón), agentes quelantes (por ejemplo, EDTA), antioxidantes (por ejemplo, ácido ascórbico, metionina, vitamina E) y cosolventes.

La presente formulación también puede contener un agente terapéutico de combinación, además del anticuerpo anti-VEGF de la divulgación. Ejemplos de agentes terapéuticos de combinación adecuados se proporcionan en la Sección 6.10 más adelante.

El esquema de dosificación para la administración subcutánea puede variar desde una vez cada seis meses hasta diariamente dependiendo de un número de factores clínicos, incluyendo el tipo de enfermedad, la gravedad de la enfermedad y la sensibilidad del paciente al anticuerpo anti-VEGF.

La dosificación de un anticuerpo anti-VEGF de la divulgación que será administrada variará de acuerdo con el anticuerpo particular, el tipo de enfermedad (por ejemplo, cáncer, enfermedad inflamatoria, etc.), el sujeto, y la gravedad de la enfermedad, la condición física del sujeto, el régimen terapéutico (por ejemplo, si se usa un agente terapéutico de combinación) y la vía de administración seleccionada; la dosificación apropiada puede ser determinada fácilmente por una persona experta en el arte.

Un experto en el arte reconocerá que la cantidad óptima y el espaciamiento de las dosificaciones individuales de un anticuerpo anti-VEGF de la divulgación serán determinados por la naturaleza y magnitud de la condición que está siendo tratada, la forma, vía y sitio de administración, y la edad y condición del sujeto particular que está siendo tratado, y que un médico determinará finalmente las dosificaciones apropiadas que serán usadas. Esta dosificación puede repetirse tan frecuentemente como sea apropiado. Si aparecen efectos secundarios, la cantidad y/o frecuencia de la dosificación puede ser alterada o reducida, de acuerdo con la práctica clínica normal.

6.10 TERAPIA DE COMBINACIÓN

A continuación se describen métodos de combinación en los cuales pueden utilizarse los anticuerpos anti-VEGF de la divulgación. Los métodos de combinación de la divulgación involucran la administración de al menos dos agentes a un paciente, el primero de los cuales es un anticuerpo anti-VEGF de la divulgación, y el segundo de los cuales es un agente terapéutico de combinación. El anticuerpo anti-VEGF y el agente terapéutico de combinación pueden administrarse simultánea, secuencial o separadamente.

Los métodos de terapia de combinación de la presente divulgación pueden dar como resultado un efecto mayor que el aditivo, proporcionando beneficios terapéuticos cuando ni el anticuerpo anti-VEGF ni el agente terapéutico de combinación administrados en una cantidad por sí solos son terapéuticamente eficaces.

En los presentes métodos, el anticuerpo anti-VEGF de la divulgación y el agente terapéutico de combinación pueden ser administrados concurrentemente, ya sea simultánea o consecutivamente. Como se usa aquí, se dice que el anticuerpo anti-VEGF de la divulgación y el agente terapéutico de combinación son administrados consecutivamente si son administrados al paciente el mismo día, por ejemplo durante la misma visita del paciente. La administración consecutiva puede producirse separada por 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8 horas. Por el contrario, se dice que el anticuerpo anti-VEGF de la divulgación y el agente terapéutico de combinación se administran separadamente si se administran al paciente en diferentes días, por ejemplo, el

anticuerpo anti-VEGF de la divulgación y el agente terapéutico de combinación pueden administrarse a intervalos de 1 día, 2 días o 3 días, una semana, 2 semanas o intervalos mensuales. En los métodos de la presente divulgación, la administración del anticuerpo anti-VEGF de la divulgación puede preceder o seguir a la administración del agente terapéutico de combinación.

Como un ejemplo no limitante, el anticuerpo anti-VEGF de la divulgación y el agente terapéutico de combinación pueden ser administrados concurrentemente por un período de tiempo, seguido por un segundo período de tiempo en el cual la administración del anticuerpo anti-VEGF de la divulgación y del agente terapéutico de combinación se alterna.

Debido a los efectos potencialmente sinérgicos de administrar un anticuerpo anti-VEGF de la divulgación y un agente terapéutico de combinación, estos agentes pueden ser administrados en cantidades que, si uno o los dos agentes se administran por sí solos, no son terapéuticamente eficaces.

En ciertos aspectos, el agente terapéutico de combinación es un agente antiangiogénico, un fármaco antirreumático, un agente anti-inflamatorio, un agente quimioterapéutico, un agente radioterapéutico, un agente inmunosupresor o un fármaco citotóxico.

Está contemplado que cuando se usan para tratar diversas enfermedades, los anticuerpos anti-VEGF de la divulgación pueden combinarse con otros agentes terapéuticos adecuados para la misma o similares enfermedades. Cuando se usan para tratar el cáncer, los anticuerpos de la presente divulgación pueden usarse en combinación con terapias convencionales para el cáncer, tales como cirugía, radioterapia, quimioterapia o combinaciones de las mismas.

En algunos otros aspectos, otros agentes terapéuticos útiles para la terapia de tumores en combinación con el anticuerpo de la divulgación incluyen antagonistas, por ejemplo anticuerpos, de otros factores que están involucrados en el crecimiento tumoral, tales como EGFR, ErbB2 (también conocido como Her2), ErbB3, ErbB4 o TNF- α .

A veces, para el tratamiento de cánceres y enfermedades inmunes, puede ser beneficioso administrar también una o más citoquinas al paciente. En una modalidad preferida, el anticuerpo contra VEGF es co-administrado con un agente inhibidor del crecimiento.

Las dosificaciones adecuadas para el agente inhibidor del crecimiento son aquellas que se usan actualmente, y pueden disminuirse debido a la acción combinada (sinergia) del agente inhibidor del crecimiento y el anticuerpo anti-VEGF.

Para el tratamiento de cánceres, enfermedades inmunes y enfermedades retinianas, pueden usarse adecuadamente agentes anti-inflamatorios en combinación con los anticuerpos anti-VEGF de la divulgación. Los agentes anti-inflamatorios incluyen, pero no están limitados a, acetaminofeno, difenhidramina, meperidina, dexametasona, pentasa, mesalazina, asacol, fosfato de codeína, benorilato, fenbufeno, naprosina, diclofenaco, etodolaco, indometacina, aspirina e ibuprofeno.

Para el tratamiento de cánceres, pueden usarse adecuadamente agentes quimioterapéuticos en combinación con los anticuerpos anti-VEGF de la divulgación. Los agentes quimioterapéuticos incluyen, pero no están limitados a, moléculas radioactivas, toxinas, también denominadas citotoxinas o agentes citotóxicos, que incluyen cualquier agente que es perjudicial para la viabilidad de las células, agentes y liposomas u otras vesículas que contienen compuestos quimioterapéuticos. Los ejemplos de agentes quimioterapéuticos adecuados incluyen, pero no están limitados a, 1-dehidrotestosterona, 5-fluorouracilo, dacarbazina, 6-mercaptopurina, 6-tioguanina, actinomicina D, adriamicina, aldesleuquina, un anticuerpo anti-integrina $\alpha 5\beta 1$, agentes alquilantes, alopurinol sódico, altretamina, amifostina, anastrozol, antramicina (AMC), agentes antimitóticos, cis-diclorodiamina platino (II) (DDP) cisplatino, diaminodicloro platino, antraciclina, antibióticos, antimetabolitos, asparaginasa, BCG viva (intravesical), fosfato sódico de betametasona y acetato de betametasona, bicalutamida, sulfato de bleomicina, busulfán, leucovorín calcio, calicheamicina, capecitabina, carboplatino, lomustina (CCNU), carmustina (BSNU), clorambucil, cisplatino, cladribina, colchicina, estrógenos conjugados, ciclofosfamida, citarabina, citocalasina B, citoxán, dacarbazina, dactinomicina (anteriormente actinomicina), daunorrubicina HCl, citrato de daunorrubicina, denileuquina

difitox, dexrazoxano, dibromomanitol, dihidroxiantracinadiona, docetaxel, mesilato de dolasetrón, doxorubicina HCl, dronabinol, L-asparaginasa de *E. coli*, eolociximab, emetina, epoetina- α , L-asparaginasa de *Erwinia*, estrógenos esterificados, estradiol, fosfato sódico de estramustina, bromuro de etidio, etinil estradiol, etidronato, etopósido, factor citrovoro, fosfato de etopósido, filgrastim, floxuridina, fluconazol, fosfato de fludarabina, fluorouracilo, flutamida, ácido folínico, gemcitabina HCl, glucocorticoides, acetato de goserelina, gramicidina D, granisetron HCl, hidroxiurea, idarrubicina HCl, ifosfamida, interferón α -2b, irinotecán HCl, letrozol, leucovorín calcio, acetato de leuprolide, levamisol HCl, lidocaína, lomustina, maitansinoide, mecloretamina HCl, acetato de medroxiprogesterona, acetato de megestrol, melfalán HCl, mercaptopurina, mesna, metotrexato, metiltestosterona, mitramicina, mitomicina C, mitotano, mitoxantrona, nilutamida, acetato de octreotido, ondansetrón HCl, paclitaxel, pamidronato disodio, pentostatina, pilocarpina HCl, plimicina, polifeprosán 20 con implante de carmustina, porfímero sódico, procaína, procarbazona HCl, propranolol, rituximab, sargramostim, estreptozotocina, tamoxifeno, taxol, tenipósido, tenopósido, testolactona, tetracaína, tiotepa, clorambucil, tioguanina, tiotepa, topotecán HCl, citrato de toremifeno, trastuzumab, tretinoína, valrubicina, sulfato de vinblastina, sulfato de vincristina y tartrato de vinorelbina.

Cualquier agente antiangiogénico puede usarse en conjunto con los anticuerpos anti-VEGF de la divulgación, incluyendo los divulgados por Carmeliet and Jain, 2000, Nature 407:249-257. En ciertas modalidades, el agente antiangiogénico es otro antagonista de VEGF o un antagonista de un receptor de VEGF tal como variantes de VEGF, fragmentos de receptores de VEGF solubles, aptámeros capaces de bloquear a VEGF o VEGFR, anticuerpos anti-VEGFR neutralizantes, inhibidores de VEGFR tirosina quinasas de bajo peso molecular y cualesquier combinaciones de los mismos. Alternativamente o además, dos o más anticuerpos anti-VEGF pueden ser coadministrados al paciente.

En ciertas modalidades, puede usarse terapia hormonal en conjunto con los anticuerpos anti-VEGF de la divulgación. En algunas modalidades, la terapia hormonal incluye uno o más agentes que inhiben al estrógeno y/o progesterona de promover el crecimiento de las células cancerosas, por ejemplo un modulador selectivo de los receptores de estrógeno tal como

tamoxifeno, un inhibidor de aromatasa tal como anastrozol (Arimidex®) o letrozol (Femara), un inactivador de aromatasa tal como exemestano (Aromasin®), o un agente que inhibe la producción de estrógeno tal como goserelina (Zoladex). En otras modalidades, la terapia hormonal consiste en uno o más agentes que inhiben la producción de hormonas de los ovarios.

En algunos aspectos, un anticuerpo anti-VEGF puede usarse en conjunto con un inhibidor de proteína tirosina quinasa (PTK) de molécula pequeña. En algunas modalidades, el inhibidor de PTK es específico para un receptor tirosina quinasa de VEGF. En otras modalidades, el inhibidor de PTK se une a más de uno de la familia de receptores tirosina quinasas de VEGF (por ejemplo, VEGFR-1, VEGFR-2). En otras modalidades, los inhibidores de proteína tirosina quinasa útiles en las composiciones y métodos de la invención incluyen inhibidores de PTK que no se unen selectivamente a la familia de receptores tirosina quinasas de VEGF, sino que también se unen a los dominios de tirosina quinasa de otras familias de proteínas tales como HER2, HER3, HER4, PDGFR y/o Raf.

En algunas modalidades, la tirosina quinasa es un receptor tirosina quinasa, o sea, es un dominio intracelular de una proteína más grande que tiene un dominio de unión al ligando extracelular y es activado por la unión de uno o más ligandos. En ciertas modalidades, la proteína tirosina quinasa es una tirosina quinasa que no es receptor. Los inhibidores de PTK útiles en los métodos de la presente divulgación incluyen, pero no están limitados a, gefitinib (ZD-1839, Iressa®), erlotinib (OSI-1774, Tarceva®), canertinib (CI-1033), vandetanib (ZD6474, Zactima®), tirfostina AG-825 (CAS 149092-50-2), lapatinib (GW-572016), sorafenib (BAY43-9006), AG-494 (CAS 133550-35-3), RG-13022 (CAS 149286-90-8), RG-14620 (CAS 136831-49-7), BIBW 2992 (Tovok), tirfostina 9 (CAS 136831-49-7), tirfostina 23 (CAS 118409-57-7), tirfostina 25 (CAS 118409-58-8), tirfostina 46 (CAS 122520-85-8), tirfostina 47 (CAS 122520-86-9), tirfostina 53 (CAS 122520-90-5), buteína (1-(2,4-dihidroxifenil)-3-(3,4-dihidroxifenil)-2-propen-1-ona 2',3,4,4'-tetrahidroxicalcona; CAS 487-52-5), curcumina ((E,E)-1,7-bis(4-hidroxi-3-metoxifenil)-1,6-heptadien-3,5-diona; CAS 458-37-7), N4-(1-bencil-1H-indazol-5-il)-N6,N6-dimetilpirido-[3,4-d]-pirimidina-4,6-diamina (202272-68-2), AG-1478, AG-879, (3-(6-(3-trifluorometil-fenilamino)-pirimidin-4-ilamino)fenil)amida del ácido ciclopropanocarboxílico

(CAS 879127-07-8), N8-(3-cloro-4-fluorofenil)-N2-(1-metilpiperidin-4-il)-pirimido[5,4-d]pirimidina-2,8-diamina, 2HCl (CAS 196612-93-8), 4-(4-benciloxianilino)-6,7-dimetoxiquinazolina (CAS 179248-61-4), N-(4-((3-cloro-4-fluorofenil)amino)pirido[3,4-d]pirimidin-6-il)2-butinamida (CAS 881001-19-0), EKB-569, HKI-272 y HKI-357.

En una modalidad específica, un anticuerpo anti-VEGF de la divulgación se usa en combinación con quimioterapia a base de 5-fluorouracilo intravenoso. Esta combinación es adecuada, entre otras cosas, para el tratamiento de primera o segunda línea de pacientes con carcinoma metastásico del colon o recto.

En otra modalidad específica, un anticuerpo anti-VEGF de la divulgación se usa en combinación con carboplatino y paclitaxel. Esta combinación es adecuada, entre otras cosas, para el tratamiento de primera línea de pacientes con cáncer de pulmón de células no pequeñas no escamosas, que es no reseccionable, localmente avanzado, recurrente o metastásico.

En otra modalidad específica, un anticuerpo anti-VEGF de la divulgación se usa en combinación con paclitaxel. Esta combinación es adecuada, entre otras cosas, para el tratamiento de pacientes que no han recibido quimioterapia para el cáncer de mama metastásico HER2-negativo.

Para el tratamiento de enfermedades retinianas, los anticuerpos anti-VEGF de la divulgación pueden usarse en combinación con E10030, un aptámero peguilado anti-factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF); con ARC1905, un aptámero peguilado direccionado hacia el componente C5 de la cascada del complemento; y volociximab, un anticuerpo monoclonal direccionado hacia el receptor transmembrana de integrina $\alpha 5 \beta 1$; terapia fotodinámica con Visudyne® (PDT); o Macugen®, un aptámero (pegaptanib sódico).

6.11 REGÍMENES TERAPÉUTICOS

La presente divulgación proporciona regímenes terapéuticos que involucran la administración de los anticuerpos anti-VEGF de la divulgación. El régimen terapéutico variará dependiendo de la edad, peso y condición de enfermedad del paciente. El régimen terapéutico puede continuar por 2 semanas hasta indefinidamente. En modalidades específicas, el régimen

terapéutico se continúa por 2 semanas a 6 meses, de 3 meses a 5 años, de 6 meses a 1 ó 2 años, de 8 meses a 18 meses, o similar. El régimen terapéutico puede ser un régimen de dosis no variable o un régimen de dosis multi-variable.

Para los ejemplos de regímenes de dosificación que se describen más adelante, el anticuerpo anti-VEGF puede administrarse como una solución estéril libre de preservantes para administración subcutánea.

Para el tratamiento del cáncer colorrectal metastásico, un anticuerpo anti-VEGF de la divulgación se administra por vía intravenosa a una dosis de 0,5-15 mg/kg cada dos semanas con bolo-IFL (régimen de irinotecán, 5-fluorouracilo y leucovorín). En modalidades específicas, la dosis es de 1-4 mg/kg, 2-6 mg/kg, 0,5-3 mg/kg, 1-10 mg/kg, 3-4,8 mg/kg o 1-4,5 mg/kg cada dos semanas con bolo-IFL.

En otra modalidad para el tratamiento del cáncer colorrectal metastásico, un anticuerpo anti-VEGF de la divulgación se administra por vía intravenosa a una dosis de 1-30 mg/kg cada dos semanas con FOLFOX4 (régimen de oxaliplatino, leucovorín y fluorouracilo). En modalidades específicas, la dosis es de 2-9 mg/kg, 3-12 mg/kg, 1-7,5 mg/kg, 2-20 mg/kg, 6-9,75 mg/kg o 4-9,5 mg/kg cada dos semanas con FOLFOX4.

Para el tratamiento del cáncer de pulmón de células no pequeñas no escamosas, un anticuerpo anti-VEGF de la divulgación se administra por vía intravenosa a una dosis de 2-40 mg/kg cada tres semanas con carboplatino/paclitaxel. En modalidades específicas, la dosis es de 5-14 mg/kg, 4-20 mg/kg, 10-17,5 mg/kg, 7-14 mg/kg, 10-30 mg/kg o 3-30 mg/kg cada tres semanas con carboplatino/paclitaxel.

Para el tratamiento del cáncer de mama metastásico, un anticuerpo anti-VEGF de la divulgación se administra por vía intravenosa a una dosis de 0,5-20 mg/kg cada dos semanas con paclitaxel. En modalidades específicas, la dosis es de 1-4 mg/kg, 2-6 mg/kg, 0,5-3 mg/kg, 1-10 mg/kg, 3-4,8 mg/kg o 1-4,5 mg/kg cada dos semanas con paclitaxel.

Para el tratamiento del cáncer de mama metastásico, un anticuerpo anti-VEGF de la divulgación se administra por vía intravenosa a una dosis de 0,5-20 mg/kg cada dos semanas

como monoterapia. En modalidades específicas, la dosis es de 1-4 mg/kg, 2-6 mg/kg, 0,5-3 mg/kg, 1-10 mg/kg, 3-4,8 mg/kg o 1-4,5 mg/kg cada dos semanas como monoterapia.

Para el tratamiento de la degeneración macular relacionada con la edad (DME), un anticuerpo anti-VEGF de la divulgación se administra a una dosis de 0,1-1 mg por inyección intravítrea una vez al mes (aproximadamente 28 días). En modalidades específicas, la dosis es de 0,1-0,4 mg, 0,2-0,6 mg, 0,1-0,25 mg, 0,25-0,5 mg, 0,25-0,75 mg o 0,3-0,45 mg por inyección intravítrea una vez al mes (aproximadamente 28 días). En una modalidad específica, un paciente tratado con un anticuerpo anti-VEGF de la divulgación tiene DME húmeda. En otra modalidad específica, un paciente tiene DME seca.

6.12 KITS FARMACÉUTICOS Y DE DIAGNÓSTICO

La presente divulgación comprende kits farmacéuticos que contienen los anticuerpos anti-VEGF (incluyendo conjugados de anticuerpos) de la divulgación. El kit farmacéutico es un envase que comprende el anticuerpo anti-VEGF de la divulgación (por ejemplo, ya sea en forma liofilizada o como una solución acuosa) y uno o más de los siguientes:

- Un agente terapéutico de combinación, por ejemplo como se describió en la Sección 6.10 anterior;
- Un dispositivo para administrar el anticuerpo anti-VEGF, por ejemplo una pluma, aguja y/o jeringa; y
- Agua de grado farmacéutico o tampón para resuspender el anticuerpo si el anticuerpo está en forma liofilizada.

En ciertos aspectos, cada dosis unitaria del anticuerpo anti-VEGF se envasa por separado, y un kit puede contener una o más dosis unitarias (por ejemplo, dos dosis unitarias, tres dosis unitarias, cuatro dosis unitarias, cinco dosis unitarias, ocho dosis unitarias, diez dosis unitarias o más). En una modalidad específica, las una o más dosis unitarias están alojadas cada una en una jeringa o pluma.

También se incluyen aquí kits de diagnóstico que contienen los anticuerpos anti-VEGF (incluyendo conjugados de anticuerpos) de la divulgación. El kit de diagnóstico es un envase que comprende el anticuerpo anti-VEGF de la divulgación (por ejemplo, ya sea en forma liofilizada o como una solución acuosa) y uno o más reactivos útiles para efectuar un ensayo de diagnóstico. Cuando el anticuerpo anti-VEGF se marca con una enzima, el kit puede incluir sustratos y cofactores requeridos por la enzima (por ejemplo, un precursor de sustrato que proporciona el cromóforo o fluoróforo detectable). Además pueden incluirse otros aditivos, tales como estabilizadores, tampones (por ejemplo, un tampón de bloqueo o un tampón de lisis) y similares. En ciertas modalidades, el anticuerpo anti-VEGF incluido en un kit de diagnóstico está inmovilizado en una superficie sólida, o se incluye en el kit una superficie sólida (por ejemplo, un portaobjeto) en la cual el anticuerpo puede ser inmovilizado. Las cantidades relativas de los diversos reactivos pueden variar ampliamente para proporcionar concentraciones en solución de los reactivos que optimicen sustancialmente la sensibilidad del ensayo. En una modalidad específica, el anticuerpo y uno o más reactivos pueden ser proporcionados (individualmente o combinados) como polvos secos, habitualmente liofilizados, incluyendo excipientes que al disolverse proporcionarán una solución de reactivos que tiene la concentración apropiada.

7. EJEMPLO 1: IDENTIFICACIÓN DE EPÍTOPOS DE CÉLULAS T DE BEVACIZUMAB

7.1 MATERIALES Y MÉTODOS

7.1.1 Péptidos

Los péptidos fueron sintetizados usando un formato multi-pin de Mimotopes (Adelaide, Australia). Las secuencias de las regiones V de las cadenas liviana y pesada de bevacizumab fueron sintetizadas como péptidos 15-meros traslapados en 12 amino ácidos (Tablas 3 y 4) para un total de 69 péptidos. Los péptidos llegaron liofilizados y fueron resuspendidos en DMSO (Sigma-Aldrich) a aproximadamente 1-2 mg/ml. Los stocks de péptidos se mantuvieron congelados a -20°C.

7.1.2 Células mononucleares de sangre periférica humana

Productos de capa leucocitaria de donantes de la comunidad fueron comprados a Stanford Blood Center, Palo Alto, CA. El material de capa leucocitaria fue diluido 1:1 (v:v) con DPBS que no contenía calcio ni magnesio. El material de capa leucocitaria diluido (25-35 ml) fue colocado en tubos de centrifuga cónicos de 50 ml (Sarsted o Costar) sobre una base de 12,5 ml de FicollPaque-PLUS (GE Healthcare). Las muestras fueron centrifugadas a 900 G por 30 minutos a temperatura ambiente. Las células mononucleares de sangre periférica (PBMC) fueron recolectadas de la interfaz. Se agregó DPBS para llevar el volumen final a 50 ml y las células fueron centrifugadas a 350 G por 5 minutos. Las células peletizadas fueron resuspendidas en DPBS y contadas.

7.1.3 Células dendríticas

Para el aislamiento de células dendríticas, en matraces de cultivo T75 (Costar) se sembraron 10^8 PBMC recién aisladas en un volumen total de 30 ml de medio AIM V (Invitrogen). Las PBMC en exceso fueron congeladas a -80°C en 90% de suero de ternero fetal (FCS) y 10% de DMSO a 5×10^7 células/ml. Los matraces T75 fueron incubados a 37°C en CO_2 al 5% por 2 horas. Las células no adheridas fueron removidas y la monocapa adherida fue lavada con DPBS. Para diferenciar las células dendríticas de los monocitos, se agregaron 30 ml de medio AIM V que contenía 800 unidades/ml de GM-CSF (R and D Systems) y 500 unidades/ml de IL-4 (R and D Systems). Los matraces fueron incubados por 5 días. El día 5, IL-1 α (Endogen) y TNF α (Endogen) fueron añadidos a 50 pg/ml y 0,2 ng/ml. Los matraces fueron incubados por dos días más. El día 7, las células dendríticas fueron recolectadas por adición de 3 ml de EDTA 100 mM que contenía 0,5 a 1,0 mg de Mitomicina C (Sigma-Aldrich), para una concentración final de 10 mM de EDTA y 16,5 a 33 $\mu\text{g/ml}$ de Mitomicina C. Los matraces fueron incubados por una hora más a 37°C y CO_2 al 5%. Las células dendríticas fueron recolectadas y lavadas 2-3 veces en medio AIM V.

7.1.4 Cultivo celular

El día 7, PBMC autólogas previamente congeladas fueron descongeladas rápidamente en un baño de agua a 37°C . Las células fueron diluidas inmediatamente en DPBS o medio AIM V y centrifugadas a 350 G por 5 minutos. Las células CD4 $^{+}$ fueron enriquecidas por

selección negativa usando perlas magnéticas (kit Easy-Sep CD4+, Stem Cell Technologies). Células T CD4+ autólogas y células dendríticas fueron cocultivadas a 2×10^5 células T CD4+ por 2×10^4 células dendríticas por pocillo, en placas de fondo redondo de 96 pocillos (Costar 9077). Se añadieron los péptidos a aproximadamente 5 µg/ml. Los pocillos de control contenían el vehículo DMSO (Sigma) solo a 0,25% v:v. Los pocillos de control positivo contenían DMSO a 0,25% y toxoide tetánico (List Biologicals o CalBioChem) a 1 µg/ml. Los cultivos fueron incubados por 5 días. El día 5, se añadió 0,25 µCi por pocillo de timidina tritiada (Amersham o GE Healthcare). Los cultivos fueron cosechados el día 6 a esterillas filtrantes usando una cosechadora de células Packard Filtermate. El recuento de centelleo se efectuó usando un contador de centelleo Wallac MicroBeta 1450 (Perkin Elmer).

7.1.5 *Análisis de los datos*

Se calcularon los valores promedio de CPM de fondo, promediando los resultados individuales de 6 a 12 réplicas. Se promediaron los valores de CPM de los cuatro pocillos de control positivo. Se promediaron los pocillos replicados o triplicados para cada péptido. Los valores de índice de estimulación para los pocillos de control positivo y los pocillos con péptidos se calcularon dividiendo los valores de CPM experimentales promedio por los valores de control promedio. Para ser incluido en el conjunto de datos, se requirió un índice de estimulación mayor que 3,0 en los pocillos de control positivo con toxoide tetánico. Se registró una respuesta para cualquier péptido que daba como resultado un índice de estimulación de 2,95 o más. Los péptidos se analizaron usando muestras de sangre periférica de un grupo de 99 donantes. Las respuestas a todos los péptidos fueron compiladas. Para cada péptido analizado, se calculó el porcentaje del conjunto de donantes que respondió con un índice de estimulación de 2,95 o más. Además, se calculó el índice de estimulación promedio para todos los donantes.

7.2 RESULTADOS

7.2.1 *Identificación de epítomos de células T CD4+ en las regiones VH y VL de bevacizumab*

Péptidos epítomos de células T CD4⁺ fueron identificados por un análisis del porcentaje de respuestas a los péptidos dentro del conjunto de 99 donantes. El porcentaje de respuestas promedio y la desviación estándar se calcularon para todos los péptidos ensayados describiendo las regiones V de la cadena pesada y la cadena liviana de bevacizumab. Una tasa de respuesta mayor o igual a la respuesta de fondo promedio más tres desviaciones estándar, fue considerada como un epítomo de células T CD4⁺ potencial. Para la región V de la cadena liviana de bevacizumab, se ensayaron 32 péptidos (Tabla 3) que dieron como resultado un porcentaje de respuestas de fondo promedio de $2,1 \pm 2,7\%$. Se determinó que tres desviaciones estándar por sobre el fondo era 10,2%. Un péptido en la posición 13 (Q40-T54) exhibió este nivel de respuesta en el conjunto de datos de péptidos de la cadena liviana de bevacizumab, con una tasa de respuesta de 15,2% (Figura 2A). Para la región V de la cadena pesada de bevacizumab, se ensayaron 37 péptidos (Tabla 4). El porcentaje de respuestas de fondo promedio fue de $2,8 \pm 3,1\%$. Tres desviaciones estándar por sobre el fondo era 12,1%. Un péptido dentro del conjunto de datos de la cadena pesada de bevacizumab, el #18 (N52-R56), obtuvo un porcentaje de respuestas de 16,2% (Figura 3A). Un segundo péptido en la posición #30 en el conjunto de datos de la cadena pesada obtuvo una tasa de respuesta de 9,1%, y fue considerado como un epítomo debido a un índice de estimulación aumentado (véase más abajo).

El índice de estimulación promedio se calculó para todos los péptidos en el conjunto de datos. El péptido 13 de la cadena liviana tuvo un alto índice de estimulación promedio de $1,82 \pm 0,24$ e.e.m. (Figura 2B). El péptido #18 de la cadena pesada tuvo un valor de índice de estimulación promedio de $2,16 \pm 0,35$ e.e.m. (Figura 3B). El péptido en la posición #30 dio un índice de estimulación promedio de $1,45 \pm 0,18$ e.e.m. (Figura 3B), debido a un índice de estimulación promedio elevado y una tasa de respuesta por sobre el promedio. El péptido en la posición #30 fue incluido cuando se determinó el contenido de epítomos de células T CD4⁺ en la región V de este anticuerpo. Todos estos valores de índice de estimulación son significativamente más altos que el índice de estimulación promedio para todos los péptidos en los dos conjuntos de datos ($1,14 \pm 0,07$ para los 69 péptidos de cadena pesada y de cadena liviana).

Estos datos indican que hay tres regiones de epítomos de células T CD4+ en las regiones V de bevacizumab (Tabla 5). En la región VL, un epítomo se encuentra en la posición de péptido 13 que abarca el armazón 2 y dos amino ácidos de CDR2. La secuencia contiene una retro-mutación de murino (V46) insertada en la secuencia durante la humanización. En la Tabla 5, los amino ácidos derivados de las CDRs están subrayados. En la cadena pesada, se identificaron dos regiones de péptidos epítomos. El epítomo más potente en la posición #18 abarca toda la CDR2. La segunda región de péptidos epítomos contiene amino ácidos tanto del armazón 3 como de CDR3.

7.2.2 Variantes con inmunogenicidad reducida de anticuerpos variantes de bevacizumab

Bevacizumab fue sometido a análisis mutacional (véase el Ejemplo 2 más abajo). En base a estudios de unión al antígeno efectuados en conjunto con el análisis mutacional, se identificó un conjunto de sustituciones de amino ácidos candidatas dentro de las regiones CDR-H2 y CDR-H3 que no reducían significativamente la afinidad del anticuerpo por VEGF (Tabla 6). Estas sustituciones de amino ácidos fueron ensayadas, simples y en combinación, para identificar variantes de bevacizumab con inmunogenicidad reducida en comparación con el anticuerpo de tipo silvestre.

8. EJEMPLO 2: IDENTIFICACIÓN DE VARIANTES DE BEVACIZUMAB CON AFINIDAD AUMENTADA POR VEGF

El anticuerpo bevacizumab fue sometido a un análisis mutacional completo para identificar mutantes que tuvieran una afinidad aumentada por VEGF en comparación con bevacizumab. La afinidad aumentada de los mutantes candidatos con alta afinidad por VEGF, en comparación con bevacizumab, fue analizada BIAcore para confirmar sus características de unión.

8.1 MATERIALES Y MÉTODOS

8.1.1 BIAcore

Quince construcciones de la región VH de bevacizumab variantes fueron clonadas junto con la región VL no modificada dentro de un plásmido que contenía IgG₁ humana, expresado en las líneas celulares 293T/17 por transfección transitoria, y los anticuerpos fueron purificados por afinidad con Proteína A o Proteína G. La afinidad de los anticuerpos por VEGF (R&D systems, Minneapolis, MN) se determinó usando un sistema de resonancia de plasmón de superficie BIAcore 2000 y 3000 (BIAcore, GE Healthcare, Piscataway, NJ). Anticuerpo policlonal de cabra anti-Fc humano (Jackson ImmunoResearch) fue inmovilizado primero sobre la superficie biosensora usando reactivos estándar de acoplamiento de aminas de BIAcore (N-etil-N'-dimetilaminopropilcarbodiimida, EDC; N-hidroxisuccinimida, NHS; y etanolamina HCl, pH 8,5), seguido por la captura de los anticuerpos anti-VEGF (bevacizumab y variantes de bevacizumab) sobre superficies paralelas a un caudal bajo de 5 µl/min. RL se mantuvo bajo para minimizar la avidéz debida a la naturaleza dimérica de VEGF. No se efectuó captura del anticuerpo sobre la superficie de referencia, para que sirviera como un control negativo. Posteriormente, VEGF fue inyectado a todas las celdas de flujo a un caudal de 50 µl/min por dos minutos para monitorear la asociación, seguido por un flujo de 25 minutos de tampón de corrida HBS-P (HEPES 10 mM, 150 mM de cloruro de sodio, 0,005% de P-20, pH 7,4) para monitorear la fase de disociación. En cada ciclo, VEGF, a 6 concentraciones diferentes de VEGF en el rango entre 0 nM y 512 nM y con incrementos de cuatro veces, fue inyectado sobre la superficie. La superficie fue regenerada con H₃PO₄ al 1,5% a un caudal de 100 µl/min en dos pulsos breves al final de cada ciclo. Los datos de unión fueron ajustados al modelo de Langmuir 1:1 para extraer las constantes de unión del software BIAevaluate. Se aplicó la técnica de "doble referencia" a cada análisis para eliminar las respuestas de fondo de la superficie de referencia y del control solamente con tampón. Todos los datos de cinética de unión fueron analizados en al menos 3 determinaciones separadas.

8.2 RESULTADOS

Los resultados se exhiben como números absolutos y como las veces en que mejoró por sobre el tipo silvestre. Casi todas las variantes presentadas tuvieron velocidades de

asociación (k_{on}) y disociación (k_{off}) mejoradas en comparación con bevacizumab o el tipo silvestre (Tabla 7). Los valores de afinidad finales para las variantes fueron del orden de 0,1 nM y llegaron tan bajo como 0,08 nM para la variante correspondiente a SEQ ID NO:82. Estos valores contrastan con bevacizumab, que tiene una afinidad medida en estos experimentos de 1,9 nM.

Las Tablas 8 y 9 muestran variantes de cadena pesada adicionales que, según indican los estudios de unión preliminares, tienen una mayor afinidad por VEGF que bevacizumab (datos no mostrados). La Tabla 10 muestra variantes de cadena pesada que, según indican los estudios preliminares, tienen una afinidad por VEGF similar a la de bevacizumab (datos no mostrados). La Tabla 11 muestra variantes de cadena liviana que, según indican los estudios preliminares, tienen una afinidad por VEGF similar a la de bevacizumab (datos no mostrados).

9. EJEMPLO 3: SELECCIÓN DE PÉPTIDOS VARIANTES DESINMUNIZADOS

Se generaron péptidos variantes correspondientes a las regiones inmunogénicas de bevacizumab (véase el Ejemplo 1) (Tablas 14-16). Los péptidos variantes se seleccionaron en base al análisis mutacional completo descrito en el Ejemplo 2, en el cual se identificaron modificaciones a las CDRs que no reducían sustancialmente la afinidad de unión de bevacizumab a VEGF.

Un total de 77 péptidos fueron sintetizados y analizados en base a los estudios de unión al antígeno, incluyendo dos síntesis de cada uno de los péptidos 15-meros padres. Se analizó un total de 93 donantes con los péptidos padres y variantes utilizando el método descrito en la Sección 7.1, y los resultados se muestran en las Figuras 4A-4C. En particular, las Figuras 4A-4C muestran respuestas de células T CD4+ a péptidos epítomos de bevacizumab mutantes. El promedio de respuestas a las secuencias de los epítomos padres no modificadas se indican con rombos huecos. Los círculos grandes indican péptidos seleccionados mencionados en la Tabla 17 (véase más abajo). La Figura 4A muestra péptidos de CDR2 de VH; la Figura 4B muestra

péptidos de CDR3 de VH; y la Figura 4C muestra péptidos de CDR2 de VL. Los datos de inmunogenicidad para péptidos seleccionados se muestran en la Tabla 17.

Para los péptidos de CDR2 de la región variable de la cadena pesada, el porcentaje de respuestas promedio a los péptidos padres en este estudio fue de 5,38% y 6,45%. Tres péptidos mutantes demostraron una tasa de respuesta general y un índice de estimulación promedio reducidos en comparación con los péptidos padres.

Las tasas de respuesta a los péptidos padres para los péptidos epítomos de CDR3 de la región variable de la cadena pesada en este estudio fueron de 7,53% y 6,45%. Se encontró una sola secuencia de péptido mutante que demostró respuestas generales reducidas en comparación con el péptido padre.

Finalmente, las tasas de respuesta a los padres de los péptidos de CDR2 de la región variable de la cadena liviana en este estudio fueron de 25,8% y 15%. Se identificó un péptido mutante que demostró una inmunogenicidad general reducida en comparación con el péptido padre.

Para demostrar que las mutaciones desinmunizantes mantenían la afinidad por VEGF en comparación con bevacizumab, se usó citometría de flujo para comparar las propiedades de unión de anticuerpos variantes que incluían mutaciones en los péptidos epítomos modificados (ya sea como modificaciones de amino ácidos simples o dobles) y bevacizumab. Varias mutaciones desinmunizantes tenían una afinidad comparable o aumentada por VEGF en comparación con bevacizumab.

En un estudio, células 293c18 transfectadas transitoriamente que expresaban formas unidas a la superficie de las variantes de bevacizumab, fueron teñidas con rHu VEGF conjugado con Alexa 647 (Invitrogen Cat #PHG0143) a 3 nM y anticuerpo de cabra anti-kappa humana-RPE (Southern Biotech Cat#2063-09) a una dilución de 1:400. Los datos se recolectaron mediante citometría de flujo, usando un citómetro de flujo DakoCytomation CyAn ADP, y se analizaron usando el programa de análisis FloJo de Treestar. Las intensidades medias de fluorescencia (MFI) medidas en este trabajo se presentan en la Tabla 18.

En otro estudio, se midió la EC_{50} de la unión a VEGF de bevacizumab y anticuerpos variantes. Se generaron gráficos de titulación de los anticuerpos usando bevacizumab y sus variantes con rHuVEGF conjugado con Alexa 647, como se describió más arriba, con el VEGF diluido seriadamente dos veces de 5 μ M a 0,01 μ M. Los valores de EC_{50} se muestran en la Tabla 19.

10. MODALIDADES ESPECÍFICAS, CITAS DE REFERENCIAS

Todas las publicaciones, patentes, solicitudes de patentes y otros documentos citados en esta solicitud se incorporan aquí por referencia en su totalidad para todos los propósitos, en la misma medida que si se indicara individualmente que cada publicación, patente, solicitud de patente u otro documento individual se incorpora por referencia para todos los propósitos. A pesar de que se han descrito e ilustrado diversas modalidades específicas, se podrá apreciar que pueden hacerse diversos cambios sin apartarse del espíritu y alcance de la invención o las invenciones.

REIVINDICACIONES

1. Un anticuerpo anti-VEGF o un fragmento de unión anti-VEGF de un anticuerpo, CARACTERIZADO porque comprende CDRs que tienen secuencias de amino ácidos correspondientes a SEQ ID NO:3 (CDR-H1), SEQ ID NO:4 (CDR-H2), SEQ ID NO:5 (CDR-H3), SEQ ID NO:6 (CDR-L1), SEQ ID NO:7 (CDR-L2) y SEQ ID NO:8 (CDR-L3), donde CDR-H2 incluye la sustitución K64S, y opcionalmente una o más mutaciones o combinaciones de mutaciones adicionales seleccionadas de una o más de las Tablas 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12-1 a 12-9 ó 13-16, donde las seis CDRs tienen en conjunto hasta 17 sustituciones de amino ácidos en comparación con las secuencias de las CDRs del anticuerpo bevacizumab o el anticuerpo ranibizumab.

2. Un anticuerpo anti-VEGF o un fragmento de unión anti-VEGF de un anticuerpo, CARACTERIZADO porque comprende CDRs que tienen secuencias de amino ácidos correspondientes a SEQ ID NO:3 (CDR-H1), SEQ ID NO:4 (CDR-H2), SEQ ID NO:5 (CDR-H3), SEQ ID NO:6 (CDR-L1), SEQ ID NO:7 (CDR-L2) y SEQ ID NO:8 (CDR-L3), donde CDR-H2 incluye la sustitución K64Q, y opcionalmente una o más mutaciones o combinaciones de mutaciones adicionales seleccionadas de una o más de las Tablas 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12-1 a 12-9 ó 13-16, donde las seis CDRs tienen en conjunto hasta 17 sustituciones de amino ácidos en comparación con las secuencias de las CDRs del anticuerpo bevacizumab o el anticuerpo ranibizumab.

3. Un anticuerpo anti-VEGF o un fragmento de unión anti-VEGF de un anticuerpo, CARACTERIZADO porque comprende CDRs que tienen secuencias de amino ácidos correspondientes a SEQ ID NO:3 (CDR-H1), SEQ ID NO:4 (CDR-H2), SEQ ID NO:5 (CDR-H3), SEQ ID NO:6 (CDR-L1), SEQ ID NO:7 (CDR-L2) y SEQ ID NO:8 (CDR-L3), donde CDR-H2 incluye las sustituciones Y53F y K64Q, y opcionalmente una o más mutaciones o combinaciones de mutaciones adicionales seleccionadas de una o más de las Tablas 6, 7, 8, 9, 10,

11, 12-1 a 12-9 ó 13-16, donde las seis CDRs tienen en conjunto hasta 17 sustituciones de amino ácidos en comparación con las secuencias de las CDRs del anticuerpo bevacizumab o el anticuerpo ranibizumab.

4. Un anticuerpo anti-VEGF o un fragmento de unión anti-VEGF de un anticuerpo, CARACTERIZADO porque comprende CDRs que tienen secuencias de amino ácidos correspondientes a SEQ ID NO:3 (CDR-H1), SEQ ID NO:4 (CDR-H2), SEQ ID NO:5 (CDR-H3), SEQ ID NO:6 (CDR-L1), SEQ ID NO:7 (CDR-L2) y SEQ ID NO:8 (CDR-L3), donde CDR-H3 incluye las sustituciones H97E e Y98F, y opcionalmente una o más mutaciones o combinaciones de mutaciones adicionales seleccionadas de una o más de las Tablas 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12-1 a 12-9 ó 13-16, donde las seis CDRs tienen en conjunto hasta 17 sustituciones de amino ácidos en comparación con las secuencias de las CDRs del anticuerpo bevacizumab o el anticuerpo ranibizumab.

5. Un anticuerpo anti-VEGF o un fragmento de unión anti-VEGF de un anticuerpo, CARACTERIZADO porque comprende CDRs que tienen secuencias de amino ácidos correspondientes a SEQ ID NO:3 (CDR-H1), SEQ ID NO:4 (CDR-H2), SEQ ID NO:5 (CDR-H3), SEQ ID NO:6 (CDR-L1), SEQ ID NO:7 (CDR-L2) y SEQ ID NO:8 (CDR-L3), donde CDR-L2 incluye la sustitución T51A y opcionalmente una o más mutaciones o combinaciones de mutaciones adicionales seleccionadas de una o más de las Tablas 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12-1 a 12-9 ó 13-16, donde las seis CDRs tienen en conjunto hasta 17 sustituciones de amino ácidos en comparación con las secuencias de las CDRs del anticuerpo bevacizumab o el anticuerpo ranibizumab, y donde CDR-L2 en dicho anticuerpo contra VEGF no consiste en una secuencia de CDR-L2 presentada en la Tabla 13.

6. Un anticuerpo anti-VEGF o un fragmento de unión anti-VEGF de un anticuerpo, CARACTERIZADO porque comprende seis regiones determinantes de complementariedad ("CDRs") que tienen secuencias de amino ácidos correspondientes a SEQ ID NO:3 (CDR-H1),

SEQ ID NO:4 (CDR-H2), SEQ ID NO:5 (CDR-H3), SEQ ID NO:6 (CDR-L1), SEQ ID NO:7 (CDR-L2) y SEQ ID NO:8 (CDR-L3), donde dicha CDR-H1 incluye la sustitución N31F, y opcionalmente una o más mutaciones o combinaciones de mutaciones adicionales seleccionadas de una o más de las Tablas 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12-1 a 12-9 y 13, donde las seis CDRs tienen en conjunto hasta 17 sustituciones de amino ácidos en comparación con las secuencias de las CDRs del anticuerpo bevacizumab o el anticuerpo ranibizumab, y donde CDR-H1 en dicho anticuerpo contra VEGF no consiste en una secuencia de CDR-H1 presentada en las Tablas 12-1 a 12-9.

7. Un anticuerpo anti-VEGF o un fragmento de unión anti-VEGF de un anticuerpo, CARACTERIZADO porque comprende seis CDRs que tienen secuencias de amino ácidos correspondientes a SEQ ID NO:3 (CDR-H1), SEQ ID NO:4 (CDR-H2), SEQ ID NO:5 (CDR-H3), SEQ ID NO:6 (CDR-L1), SEQ ID NO:7 (CDR-L2) y SEQ ID NO:8 (CDR-L3), donde dicha CDR-H3 incluye la sustitución H97E, y opcionalmente una o más mutaciones o combinaciones de mutaciones adicionales seleccionadas de una o más de las Tablas 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12-1 a 12-9 y 13, donde las seis CDRs tienen en conjunto hasta 17 sustituciones de amino ácidos en comparación con las secuencias de las CDRs del anticuerpo bevacizumab o el anticuerpo ranibizumab, y donde CDR-H3 en dicho anticuerpo contra VEGF no consiste en una secuencia de CDR-H3 presentada en las Tablas 12-1 a 12-9.

8. Un anticuerpo anti-VEGF o un fragmento de unión anti-VEGF de un anticuerpo, CARACTERIZADO porque comprende seis CDRs que tienen secuencias de amino ácidos correspondientes a SEQ ID NO:3 (CDR-H1), SEQ ID NO:4 (CDR-H2), SEQ ID NO:5 (CDR-H3), SEQ ID NO:6 (CDR-L1), SEQ ID NO:7 (CDR-L2) y SEQ ID NO:8 (CDR-L3), donde dicha CDR-H3 incluye la sustitución H97D, y opcionalmente una o más mutaciones o combinaciones de mutaciones adicionales seleccionadas de una o más de las Tablas 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12-1 a 12-9 y 13, donde las seis CDRs tienen en conjunto hasta 17 sustituciones de amino ácidos en comparación con las secuencias de las CDRs del anticuerpo bevacizumab o el anticuerpo

ranibizumab, y donde CDR-H3 en dicho anticuerpo contra VEGF no consiste en una secuencia de CDR-H3 presentada en las Tablas 12-1 a 12-9.

9. Un anticuerpo anti-VEGF o un fragmento de unión anti-VEGF de un anticuerpo, CARACTERIZADO porque comprende seis CDRs que tienen secuencias de amino ácidos correspondientes a SEQ ID NO:3 (CDR-H1), SEQ ID NO:4 (CDR-H2), SEQ ID NO:5 (CDR-H3), SEQ ID NO:6 (CDR-L1), SEQ ID NO:7 (CDR-L2) y SEQ ID NO:8 (CDR-L3), donde dicha CDR-H3 incluye la sustitución H97P, y opcionalmente una o más mutaciones o combinaciones de mutaciones adicionales seleccionadas de una o más de las Tablas 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12-1 a 12-9 y 13, donde las seis CDRs tienen en conjunto hasta 17 sustituciones de amino ácidos en comparación con las secuencias de las CDRs del anticuerpo bevacizumab o el anticuerpo ranibizumab, y donde CDR-H3 en dicho anticuerpo contra VEGF no consiste en una secuencia de CDR-H3 presentada en las Tablas 12-1 a 12-9.

10. Un anticuerpo anti-VEGF o un fragmento de unión anti-VEGF de un anticuerpo, CARACTERIZADO porque comprende seis CDRs que tienen secuencias de amino ácidos correspondientes a SEQ ID NO:3 (CDR-H1), SEQ ID NO:4 (CDR-H2), SEQ ID NO:5 (CDR-H3), SEQ ID NO:6 (CDR-L1), SEQ ID NO:7 (CDR-L2) y SEQ ID NO:8 (CDR-L3), donde dicha CDR-H3 incluye la sustitución Y99E, y opcionalmente una o más mutaciones o combinaciones de mutaciones adicionales seleccionadas de una o más de las Tablas 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12-1 a 12-9 y 13, donde las seis CDRs tienen en conjunto hasta 17 sustituciones de amino ácidos en comparación con las secuencias de las CDRs del anticuerpo bevacizumab o el anticuerpo ranibizumab, y donde CDR-H3 en dicho anticuerpo contra VEGF no consiste en una secuencia de CDR-H3 presentada en las Tablas 12-1 a 12-9.

11. Un anticuerpo anti-VEGF o un fragmento de unión anti-VEGF de un anticuerpo, CARACTERIZADO porque comprende seis CDRs que tienen secuencias de amino ácidos correspondientes a SEQ ID NO:3 (CDR-H1), SEQ ID NO:4 (CDR-H2), SEQ ID NO:5 (CDR-

H3), SEQ ID NO:6 (CDR-L1), SEQ ID NO:7 (CDR-L2) y SEQ ID NO:8 (CDR-L3), donde dicha CDR-H3 incluye la sustitución Y99D, y opcionalmente una o más mutaciones o combinaciones de mutaciones adicionales seleccionadas de una o más de las Tablas 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12-1 a 12-9 y 13, donde las seis CDRs tienen en conjunto hasta 17 sustituciones de amino ácidos en comparación con las secuencias de las CDRs del anticuerpo bevacizumab o el anticuerpo ranibizumab, y donde CDR-H3 en dicho anticuerpo contra VEGF no consiste en una secuencia de CDR-H3 presentada en las Tablas 12-1 a 12-9.

12. Un anticuerpo anti-VEGF o un fragmento de unión anti-VEGF de un anticuerpo, CARACTERIZADO porque comprende seis CDRs que tienen secuencias de amino ácidos correspondientes a SEQ ID NO:3 (CDR-H1), SEQ ID NO:4 (CDR-H2), SEQ ID NO:5 (CDR-H3), SEQ ID NO:6 (CDR-L1), SEQ ID NO:7 (CDR-L2) y SEQ ID NO:8 (CDR-L3), donde dicha CDR-H3 incluye la sustitución S100aG, y opcionalmente una o más mutaciones o combinaciones de mutaciones adicionales seleccionadas de una o más de las Tablas 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12-1 a 12-9 y 13, donde las seis CDRs tienen en conjunto hasta 17 sustituciones de amino ácidos en comparación con las secuencias de las CDRs del anticuerpo bevacizumab o el anticuerpo ranibizumab, y donde CDR-H3 en dicho anticuerpo contra VEGF no consiste en una secuencia de CDR-H3 presentada en las Tablas 12-1 a 12-9.

13. Un anticuerpo anti-VEGF o un fragmento de unión anti-VEGF de un anticuerpo, CARACTERIZADO porque comprende CDRs que tienen secuencias de amino ácidos correspondientes a SEQ ID NO:3 (CDR-H1), SEQ ID NO:4 (CDR-H2), SEQ ID NO:5 (CDR-H3), SEQ ID NO:6 (CDR-L1), SEQ ID NO:7 (CDR-L2) y SEQ ID NO:8 (CDR-L3), donde dicha CDR-H3 incluye la sustitución S100aG, y opcionalmente una o más mutaciones o combinaciones de mutaciones adicionales seleccionadas de una o más de las Tablas 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12-1 a 12-9 y 13, donde las seis CDRs tienen en conjunto hasta 17 sustituciones de amino ácidos en comparación con las secuencias de las CDRs del anticuerpo bevacizumab o el anticuerpo ranibizumab, y donde la posición 3 en CDR-H3 de dicho anticuerpo contra VEGF no es tirosina.

14. Un anticuerpo anti-VEGF o un fragmento de unión anti-VEGF de un anticuerpo, CARACTERIZADO porque comprende CDRs que tienen secuencias de amino ácidos correspondientes a SEQ ID NO:3 (CDR-H1), SEQ ID NO:4 (CDR-H2), SEQ ID NO:5 (CDR-H3), SEQ ID NO:6 (CDR-L1), SEQ ID NO:7 (CDR-L2) y SEQ ID NO:8 (CDR-L3), donde CDR-H1 incluye al menos una sustitución seleccionada entre T28P, N31F, N31G y N31M, y opcionalmente una o más mutaciones o combinaciones de mutaciones adicionales seleccionadas de una o más de las Tablas 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12-1 a 12-9 y 13, donde las seis CDRs tienen en conjunto hasta 17 sustituciones de amino ácidos en comparación con las secuencias de las CDRs del anticuerpo bevacizumab o el anticuerpo ranibizumab, y donde CDR-H1 en dicho anticuerpo contra VEGF no consiste en una secuencia de CDR-H1 presentada en las Tablas 12-1 a 12-9.

15. Un anticuerpo anti-VEGF o un fragmento de unión anti-VEGF de un anticuerpo, CARACTERIZADO porque comprende CDRs que tienen secuencias de amino ácidos correspondientes a SEQ ID NO:3 (CDR-H1), SEQ ID NO:4 (CDR-H2), SEQ ID NO:5 (CDR-H3), SEQ ID NO:6 (CDR-L1), SEQ ID NO:7 (CDR-L2) y SEQ ID NO:8 (CDR-L3), donde CDR-H3 incluye al menos una sustitución seleccionada entre H97A, H97Q, H97S, H97T, S100aD, S100aE y S100aV, y opcionalmente una o más mutaciones o combinaciones de mutaciones adicionales seleccionadas de una o más de las Tablas 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12-1 a 12-9 y 13, donde las seis CDRs tienen en conjunto hasta 17 sustituciones de amino ácidos en comparación con las secuencias de las CDRs del anticuerpo bevacizumab o el anticuerpo ranibizumab, y donde CDR-H3 en dicho anticuerpo contra VEGF no consiste en una secuencia de CDR-H3 presentada en las Tablas 12-1 a 12-9.

16. Un anticuerpo anti-VEGF o un fragmento de unión anti-VEGF de un anticuerpo, CARACTERIZADO porque comprende CDRs que tienen secuencias de amino ácidos correspondientes a SEQ ID NO:3 (CDR-H1), SEQ ID NO:4 (CDR-H2), SEQ ID NO:5 (CDR-H3), SEQ ID NO:6 (CDR-L1), SEQ ID NO:7 (CDR-L2) y SEQ ID NO:8 (CDR-L3), donde

CDR-H1 incluye la sustitución T30W, T30R o T30Q, y opcionalmente una o más mutaciones o combinaciones de mutaciones adicionales seleccionadas de una o más de las Tablas 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12-1 a 12-9 y 13, donde las seis CDRs tienen en conjunto hasta 17 sustituciones de amino ácidos en comparación con las secuencias de las CDRs del anticuerpo bevacizumab o el anticuerpo ranibizumab, y donde CDR-H1 en dicho anticuerpo contra VEGF no consiste en una secuencia de CDR-H1 presentada en las Tablas 12-1 a 12-9.

17. Un anticuerpo anti-VEGF o un fragmento de unión anti-VEGF de un anticuerpo, CARACTERIZADO porque comprende CDRs que tienen secuencias de amino ácidos correspondientes a SEQ ID NO:3 (CDR-H1), SEQ ID NO:4 (CDR-H2), SEQ ID NO:5 (CDR-H3), SEQ ID NO:6 (CDR-L1), SEQ ID NO:7 (CDR-L2) y SEQ ID NO:8 (CDR-L3), donde CDR-H2 incluye al menos una sustitución seleccionada entre Y53F, T58F, A61G, A61K, A61R, A61H, A61Y, K64G, K64E, R65L, R65T, R65A, R65E y R65D, y opcionalmente una o más mutaciones o combinaciones de mutaciones adicionales seleccionadas de una o más de las Tablas 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12-1 a 12-9 y 13, donde las seis CDRs tienen en conjunto hasta 17 sustituciones de amino ácidos en comparación con las secuencias de las CDRs del anticuerpo bevacizumab o el anticuerpo ranibizumab, y donde CDR-H2 en dicho anticuerpo contra VEGF no consiste en una secuencia de CDR-H2 presentada en las Tablas 12-1 a 12-9.

18. Un anticuerpo anti-VEGF o un fragmento de unión anti-VEGF de un anticuerpo, CARACTERIZADO porque comprende CDRs que tienen secuencias de amino ácidos correspondientes a SEQ ID NO:3 (CDR-H1), SEQ ID NO:4 (CDR-H2), SEQ ID NO:5 (CDR-H3), SEQ ID NO:6 (CDR-L1), SEQ ID NO:7 (CDR-L2) y SEQ ID NO:8 (CDR-L3), donde CDR-H3 incluye al menos una sustitución seleccionada entre Y98F e Y100eF, y opcionalmente una o más mutaciones o combinaciones de mutaciones adicionales seleccionadas de una o más de las Tablas 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12-1 a 12-9 y 13, donde las seis CDRs tienen en conjunto hasta 17 sustituciones de amino ácidos en comparación con las secuencias de las CDRs del anticuerpo

bevacizumab o el anticuerpo ranibizumab, y donde CDR-H3 en dicho anticuerpo contra VEGF no consiste en una secuencia de CDR-H3 presentada en las Tablas 12-1 a 12-9.

19. Un anticuerpo anti-VEGF o un fragmento de unión anti-VEGF de un anticuerpo, CARACTERIZADO porque comprende CDRs que tienen secuencias de amino ácidos correspondientes a SEQ ID NO:3 (CDR-H1), SEQ ID NO:4 (CDR-H2), SEQ ID NO:5 (CDR-H3), SEQ ID NO:6 (CDR-L1), SEQ ID NO:7 (CDR-L2) y SEQ ID NO:8 (CDR-L3), donde las CDRs de la cadena pesada incluyen una combinación de sustituciones seleccionada entre:

- (a) N31F en CDR-H1, H97D en CDR-H3, Y99D en CDR-H3, y S100aG en CDR-H3;
- (b) N31F en CDR-H1, H97P en CDR-H3, Y99D en CDR-H3, y S100aG en CDR-H3;
- (c) N31F en CDR-H1, H97P en CDR-H3, e Y99E en CDR-H3;
- (d) N31F en CDR-H1, H97E en CDR-H3, e Y99E en CDR-H3;
- (e) N31F en CDR-H1, H97D en CDR-H3, e Y99E en CDR-H3;
- (f) N31F en CDR-H1, H97E en CDR-H3, Y99D en CDR-H3, y S100aG en CDR-H3;
- (g) N31F en CDR-H1, Y99D en CDR-H3, y S100aG en CDR-H3;
- (h) N31F en CDR-H1, H97P en CDR-H3, e Y99D en CDR-H3;
- (i) N31F en CDR-H1, H97D en CDR-H3, y S100aG en CDR-H3;
- (j) N31F en CDR-H1 y S100aG en CDR-H3;
- (k) N31F en CDR-H1, H97P en CDR-H3, y S100aG en CDR-H3;

donde dicho anticuerpo o fragmento de unión opcionalmente comprende una o más mutaciones o combinaciones de mutaciones adicionales seleccionadas de una o más de las Tablas 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12-1 a 12-9 y 13, donde las seis CDRs tienen en conjunto hasta 17 sustituciones de amino ácidos en comparación con las secuencias de las CDRs del anticuerpo bevacizumab o el anticuerpo ranibizumab.

20. El anticuerpo anti-VEGF o fragmento de unión anti-VEGF de acuerdo con la reivindicación 19, CARACTERIZADO porque, aparte de la combinación de sustituciones seleccionada entre (a) a (k), las CDRs de la cadena pesada no comprenden mutaciones

84

adicionales en comparación con las secuencias de las CDRs de la cadena pesada del anticuerpo bevacizumab o en comparación con las secuencias de las CDRs de la cadena pesada del anticuerpo ranibizumab.

21. El anticuerpo anti-VEGF o fragmento de unión anti-VEGF de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 19, CARACTERIZADO porque las seis CDRs tienen en conjunto hasta 16, hasta 15, hasta 14, hasta 13, hasta 12, hasta 11, hasta 10, hasta 9, hasta 8, hasta 7, hasta 6, hasta 5 o hasta 4 sustituciones de amino ácidos en comparación con las secuencias de las CDRs del anticuerpo bevacizumab o el anticuerpo ranibizumab.

22. El anticuerpo anti-VEGF o fragmento de unión anti-VEGF de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 21, CARACTERIZADO porque cualquier CDR individual tiene no más de tres sustituciones de amino ácidos en comparación con la secuencia de la CDR correspondiente del anticuerpo bevacizumab o el anticuerpo ranibizumab.

23. El anticuerpo anti-VEGF o fragmento de unión anti-VEGF de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 21, CARACTERIZADO porque cualquier CDR individual tiene no más de dos sustituciones de amino ácidos en comparación con la secuencia de la CDR correspondiente del anticuerpo bevacizumab o el anticuerpo ranibizumab.

24. El anticuerpo anti-VEGF o fragmento de unión anti-VEGF de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 23, CARACTERIZADO porque es un anticuerpo monoclonal o fragmento de unión anti-VEGF de un anticuerpo monoclonal, respectivamente.

25. El anticuerpo anti-VEGF o fragmento de unión anti-VEGF de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 24, CARACTERIZADO porque es un anticuerpo humano o humanizado, o un fragmento de unión anti-VEGF de un anticuerpo humanizado o humanizado, respectivamente.

26. El anticuerpo anti-VEGF o fragmento de unión anti-VEGF de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 25, CARACTERIZADO porque es una IgG.

27. El anticuerpo anti-VEGF o fragmento de unión anti-VEGF de acuerdo con la reivindicación 26, CARACTERIZADO porque es una IgG₁.

28. El anticuerpo anti-VEGF o fragmento de unión anti-VEGF de acuerdo con la reivindicación 26, CARACTERIZADO porque es una IgG₂.

29. El anticuerpo anti-VEGF o fragmento de unión anti-VEGF de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 28, CARACTERIZADO porque incluye una o más mutaciones en la región Fc que aumentan la actividad de ADCC.

30. El anticuerpo anti-VEGF o fragmento de unión anti-VEGF de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 29, CARACTERIZADO porque es no fucosilado.

31. El anticuerpo anti-VEGF o fragmento de unión anti-VEGF de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 30, CARACTERIZADO porque incluye una o más mutaciones en la región Fc que aumentan la unión a FcγR.

32. El anticuerpo anti-VEGF o fragmento de unión anti-VEGF de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 30, CARACTERIZADO porque incluye una o más mutaciones en la región Fc que aumentan la unión a FcRn.

33. El anticuerpo anti-VEGF o fragmento de unión anti-VEGF de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 27, CARACTERIZADO porque incluye una o más mutaciones en la región Fc que disminuyen la actividad de ADCC.

34. El anticuerpo anti-VEGF o fragmento de unión anti-VEGF de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 33, CARACTERIZADO porque, aparte de dichas una o más mutaciones, tiene una secuencia de V_H correspondiente a SEQ ID NO:1 y una secuencia de V_L correspondiente a SEQ ID NO:2.

35. El anticuerpo anti-VEGF o fragmento de unión anti-VEGF de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 34, CARACTERIZADO porque, aparte de dichas una o más mutaciones, tiene una secuencia de cadena pesada correspondiente a SEQ ID NO:9 y una secuencia de cadena liviana correspondiente a SEQ ID NO:10.

36. El anticuerpo anti-VEGF o fragmento de unión anti-VEGF de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 34, CARACTERIZADO porque tiene una afinidad que es de 1,5 a 50 veces mayor que la afinidad de un anticuerpo que tiene una secuencia de V_H correspondiente a SEQ ID NO:1 y una secuencia de V_L correspondiente a SEQ ID NO:2.

37. El anticuerpo anti-VEGF o fragmento de unión anti-VEGF de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 34, CARACTERIZADO porque tiene una afinidad que es de 1,5 a 50 veces mayor que la afinidad de un anticuerpo que tiene una secuencia de cadena pesada correspondiente a SEQ ID NO:9 y una secuencia de cadena liviana correspondiente a SEQ ID NO:10.

38. El anticuerpo anti-VEGF o fragmento de unión anti-VEGF de acuerdo con la reivindicación 36, CARACTERIZADO porque tiene una afinidad que es de 2 a 30 veces mayor que la afinidad de un anticuerpo que tiene una secuencia de V_H correspondiente a SEQ ID NO:1 y una secuencia de V_L correspondiente a SEQ ID NO:2.

39. El anticuerpo anti-VEGF o fragmento de unión anti-VEGF de acuerdo con la reivindicación 37, CARACTERIZADO porque tiene una afinidad que es de 2 a 30 veces mayor que la afinidad de un anticuerpo que tiene una secuencia de cadena pesada correspondiente a SEQ ID NO:9 y una secuencia de cadena liviana correspondiente a SEQ ID NO:10.

40. El anticuerpo anti-VEGF o fragmento de unión anti-VEGF de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 36 a 39, CARACTERIZADO porque la afinidad es una medida de K_D analizada por un biosensor.

41. El anticuerpo anti-VEGF o fragmento de unión anti-VEGF de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 40, CARACTERIZADO porque es purificado.

42. El anticuerpo anti-VEGF o fragmento de unión anti-VEGF de acuerdo con la reivindicación 41, CARACTERIZADO porque es purificado hasta al menos 85%, al menos 90%, al menos 95% o al menos 98% de homogeneidad.

43. Un anticuerpo anti-VEGF o un fragmento de unión anti-VEGF de un anticuerpo, CARACTERIZADO porque comprende seis regiones determinantes de complementariedad ("CDRs") que tienen secuencias de amino ácidos correspondientes a SEQ ID NO:3 (CDR-H1), SEQ ID NO:4 (CDR-H2), SEQ ID NO:5 (CDR-H3), SEQ ID NO:6 (CDR-L1), SEQ ID NO:7 (CDR-L2) y SEQ ID NO:8 (CDR-L3), donde la cadena pesada incluye al menos una sustitución seleccionada entre A61F en CDR-H2, A61E en CDR-H2, A61D en CDR-H2, D62L en CDR-H2, D62G en CDR-H2, D62Q en CDR-H2, D62T en CDR-H2, D62K en CDR-H2, D62R en CDR-H2, D62E en CDR-H2, D62H en CDR-H2, K64S en CDR-H2, K64V en CDR-H2, K64Q en CDR-H2, R65V en CDR-H2, R65F en CDR-H2, R65H en CDR-H2, R65N en CDR-H2, R65S en CDR-H2, R65Q en CDR-H2, R65K en CDR-H2, R65I en CDR-H2 e Y98H en CDR-H3, y opcionalmente una o más mutaciones o combinaciones de mutaciones adicionales seleccionadas de una o más de las Tablas 7, 8, 9, 10, 11, 12-1 a 12-9 y 13, donde las seis CDRs tienen en

conjunto hasta 17 sustituciones de amino ácidos en comparación con las secuencias de las CDRs del anticuerpo bevacizumab o el anticuerpo ranibizumab.

44. El anticuerpo anti-VEGF o fragmento de unión anti-VEGF de acuerdo con la reivindicación 43, CARACTERIZADO porque las seis CDRs tienen en conjunto hasta 16, hasta 15, hasta 14, hasta 13, hasta 12, hasta 11, hasta 10, hasta 9, hasta 8, hasta 7, hasta 6, hasta 5 o hasta 4 sustituciones de amino ácidos en comparación con las secuencias de las CDRs del anticuerpo bevacizumab o el anticuerpo ranibizumab.

45. El anticuerpo anti-VEGF o fragmento de unión anti-VEGF de acuerdo con la reivindicación 43 o la reivindicación 44, CARACTERIZADO porque cualquier CDR individual tiene no más de tres sustituciones de amino ácidos en comparación con la secuencia de la CDR correspondiente del anticuerpo bevacizumab.

46. El anticuerpo anti-VEGF o fragmento de unión anti-VEGF de acuerdo con la reivindicación 43 o la reivindicación 44, CARACTERIZADO porque cualquier CDR individual tiene no más de dos sustituciones de amino ácidos en comparación con la secuencia de la CDR correspondiente del anticuerpo bevacizumab.

47. El anticuerpo anti-VEGF o fragmento de unión anti-VEGF de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 43 a 46, CARACTERIZADO porque es un anticuerpo monoclonal o un fragmento de unión anti-VEGF de un anticuerpo monoclonal, respectivamente.

48. El anticuerpo anti-VEGF o fragmento de unión anti-VEGF de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 43 a 47, CARACTERIZADO porque es un anticuerpo humano o humanizado, o un fragmento de unión anti-VEGF de un anticuerpo humanizado o humanizado, respectivamente.

49. El anticuerpo anti-VEGF o fragmento de unión anti-VEGF de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 43 a 48, CARACTERIZADO porque es una IgG.

50. El anticuerpo anti-VEGF o fragmento de unión anti-VEGF de acuerdo con la reivindicación 49, CARACTERIZADO porque es una IgG₁.

51. El anticuerpo anti-VEGF o fragmento de unión anti-VEGF de acuerdo con la reivindicación 49, CARACTERIZADO porque es una IgG₂.

52. El anticuerpo anti-VEGF o fragmento de unión anti-VEGF de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 43 a 51, CARACTERIZADO porque incluye una o más mutaciones en la región Fc que aumentan la actividad de ADCC.

53. El anticuerpo anti-VEGF o fragmento de unión anti-VEGF de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 43 a 52, CARACTERIZADO porque es no fucosilado.

54. El anticuerpo anti-VEGF o fragmento de unión anti-VEGF de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 43 a 53, CARACTERIZADO porque incluye una o más mutaciones en la región Fc que aumentan la unión a FcγR.

55. El anticuerpo anti-VEGF o fragmento de unión anti-VEGF de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 43 a 53, CARACTERIZADO porque incluye una o más mutaciones en la región Fc que aumentan la unión a FcRn.

56. El anticuerpo anti-VEGF o fragmento de unión anti-VEGF de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 43 a 50, CARACTERIZADO porque incluye una o más mutaciones en la región Fc que disminuyen la actividad de ADCC.

57. El anticuerpo anti-VEGF o fragmento de unión anti-VEGF de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 43 a 56, CARACTERIZADO porque, aparte de dichas una o más mutaciones, tiene una secuencia de V_H correspondiente a SEQ ID NO:1 y una secuencia de V_L correspondiente a SEQ ID NO:2.

58. El anticuerpo anti-VEGF o fragmento de unión anti-VEGF de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 43 a 57, CARACTERIZADO porque es purificado.

59. El anticuerpo anti-VEGF o fragmento de unión anti-VEGF de acuerdo con la reivindicación 58, CARACTERIZADO porque es purificado hasta al menos 85%, al menos 90%, al menos 95% o al menos 98% de homogeneidad.

60. Un conjugado de anticuerpo-fármaco, CARACTERIZADO porque comprende un anticuerpo anti-VEGF o fragmento de unión anti-VEGF de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 59.

61. Una composición farmacéutica CARACTERIZADA porque comprende un anticuerpo anti-VEGF o fragmento de unión anti-VEGF de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 59, o un conjugado de anticuerpo-fármaco de acuerdo con la reivindicación 60, y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

62. Un ácido nucleico CARACTERIZADO porque comprende una secuencia nucleotídica que codifica el anticuerpo anti-VEGF o fragmento de unión anti-VEGF de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 36 y 43 a 57.

63. Un vector CARACTERIZADO porque comprende el ácido nucleico de la reivindicación 62.

64. Una célula huésped procariótica, CARACTERIZADA porque es transformada con un vector de acuerdo con la reivindicación 63.

65. Una célula huésped eucariótica, CARACTERIZADA porque es transformada con un vector de acuerdo con la reivindicación 63.

66. Una célula huésped eucariótica, CARACTERIZADA porque es modificada por ingeniería genética para expresar la secuencia nucleotídica de la reivindicación 62.

67. La célula huésped eucariótica de acuerdo con la reivindicación 66, CARACTERIZADA porque es una célula huésped de mamífero.

68. Un método para producir un anticuerpo anti-VEGF o fragmento de unión anti-VEGF, CARACTERIZADO porque comprende: (a) cultivar la célula huésped eucariótica de la reivindicación 66 o la reivindicación 67 y (b) recuperar el anticuerpo anti-VEGF o fragmento de unión anti-VEGF de un anticuerpo.

69. Un método para tratar el cáncer, CARACTERIZADO porque comprende administrar a un paciente humano que lo necesita, una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo anti-VEGF o fragmento de unión anti-VEGF de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 59, un conjugado de anticuerpo-fármaco de acuerdo con la reivindicación 60, o una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 61.

70. El método de acuerdo con la reivindicación 69, CARACTERIZADO porque el cáncer es carcinoma metastásico del colon, carcinoma metastásico del recto, cáncer de pulmón de células no pequeñas no escamosas, o cáncer de mama metastásico HER2-negativo.

71. El método de acuerdo con la reivindicación 70, CARACTERIZADO porque el cáncer es cáncer de pulmón de células no pequeñas no escamosas, que es no reseccionable, localmente avanzado, recurrente o metastásico.

72. Un método para tratar la degeneración macular relacionada con la edad, CARACTERIZADO porque comprende administrar a un paciente humano que lo necesita, una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo anti-VEGF o fragmento de unión anti-VEGF de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 59, un conjugado de anticuerpo-fármaco de acuerdo con la reivindicación 60, o una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 61.

73. Un método para tratar un trastorno inmune, CARACTERIZADO porque comprende administrar a un paciente humano que lo necesita, una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo anti-VEGF o fragmento de unión anti-VEGF de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 59, un conjugado de anticuerpo-fármaco de acuerdo con la reivindicación 60, o una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 61.

74. El método de acuerdo con la reivindicación 73, CARACTERIZADO porque el trastorno inmune es artritis reumatoide o enfermedad de Grave.

810.546

RESUMEN

La presente divulgación se refiere a anticuerpos dirigidos al factor de crecimiento endotelial vascular ("VEGF") y usos de estos anticuerpos, por ejemplo para tratar enfermedades asociadas con la actividad y/o sobreproducción de VEGF.

94

Cadena del anticuerpo	CDR N°	Residuo	Posición en CDR	N° de Kabat
Pesada	1	G	1	26
		Y	2	27
		T	3	28
		F	4	29
		T	5	30
		N	6	31
		Y	7	32
		G	8	33
		M	9	34
		N	10	35
Pesada	2	W	1	50
		I	2	51
		N	3	52
		T	4	52a
		Y	5	53
		T	6	54
		G	7	55
		E	8	56
		P	9	57
		T	10	58
		Y	11	59
		A	12	60
		A	13	61
		D	14	62
		F	15	63
		K	16	64
		R	17	65
Pesada	3	Y	1	95
		P	2	96
		H	3	97
		Y	4	98
		Y	5	99
		G	6	100
		S	7	100a
		S	8	100b
		H	9	100c
		W	10	100d
		Y	11	100e
		F	12	100f
		D	13	101
		V	14	102

TABLA 1

q's

Cadena del anticuerpo	CDR N°	Residuo	Posición en CDR	N° de Kabat
Liviana	1	S	1	24
		A	2	25
		S	3	26
		Q	4	27
		D	5	28
		I	6	29
		S	7	30
		N	8	31
		Y	9	32
		L	10	33
		N	11	34
Liviana	2	F	1	50
		T	2	51
		S	3	52
		S	4	53
		L	5	54
		H	6	55
		S	7	56
Liviana	3	Q	1	89
		Q	2	90
		Y	3	91
		S	4	92
		T	5	93
		V	6	94
		P	7	95
		W	8	96
		T	9	97

TABLA 2

96

SEQ ID NO:	Péptido de VL
13.	DIQMTQSPSSLSASV
14.	MTQSPSSLSASVGDR
15.	SPSSLSASVGDRVTI
16.	SLSASVGDRVTTITCS
17.	ASVGDRVTTITCSASQ
18.	GDRVTTITCSASQDIS
19.	VTITCSASQDISNYL
20.	TCSASQDISNYLNWY
21.	ASQDISNYLNWYQQK
22.	DISNYLNWYQQKPGK
23.	NYLNWYQQKPGKAPK
24.	NWYQQKPGKAPKVL
25.	QQKPGKAPKVLIIYFT
26.	PGKAPKVLIIYFTSSL
27.	APKVLIIYFTSSLHSG
28.	VLIYFTSSLHSGVPS
29.	YFTSSLHSGVPSRFS
30.	SSLHSGVPSRFSGSG
31.	HSGVPSRFSGSGSGT
32.	VPSRFSGSGSGTDFT
33.	RFSGSGSGTDFTLTI
34.	GSGSGTDFTLTISL
35.	SGTDFTLTISSLQPE
36.	DFTLTISSLQPEDFA
37.	LTISSLQPEDFATYY
38.	SSLQPEDFATYYCQQ
39.	QPEDFATYYCQQYST
40.	DFATYYCQQYSTVPW
41.	TYYCQQYSTVPWTFG
42.	CQQYSTVPWTFGQGT
43.	YSTVPWTFGQGTKVE
44.	VPWTFGQGTKVEIKR

TABLA 3

97

SEQ ID NO:	Péptido de VH
45.	EVQLVESGGGLVQPG
46.	LVESGGGLVQPGGSL
47.	SGGGLVQPGGSLRLS
48.	GLVQPGGSLRLSCAA
49.	QPGGSLRLSCAASGY
50.	GSLRLSCAASGYTFT
51.	RLSCAASGYTFTNYG
52.	CAASGYTFTNYGMNW
53.	SGYTFTNYGMNWVRQ
54.	TFTNYGMNWVRQAPG
55.	NYGMNWVRQAPGKGL
56.	MNWVRQAPGKGLEWV
57.	VRQAPGKGLEWVGWI
58.	APGKGLEWVGWINTY
59.	KGLEWVGWINTYTG
60.	EWVGWINTYTGPTY
61.	GWINTYTGPTYAAD
62.	NTYTGPTYAADFKR
63.	TGPTYAADFKRRFT
64.	PTYAADFKRRFTFSL
65.	AADFKRRFTFSLDTS
66.	FKRRFTFSLDTSKST
67.	RFTFSLDTSKSTAYL
68.	FSLDTSKSTAYLQMN
69.	DTSKSTAYLQMNSLR
70.	KSTAYLQMNSLRAED
71.	AYLQMNSLRAEDTAV
72.	QMNSLRAEDTAVYYC
73.	SLRAEDTAVYYCAKY
74.	AEDTAVYYCAKYPHY
75.	TAVYYCAKYPHYGSG
76.	YYCAKYPHYGSSHW
77.	AKYPHYGSSHWYFD
78.	PHYHGSSHWYFDVWG
79.	YGSSHWYFDVWGQGT
80.	SHWYFDVWGQGTTLVT
81.	YFDVWGQGTTLVTVSS

TABLA 4

98

SEQ ID. NO.	Secuencia	n	%	IE	e.e.m.
25	QQKPGKAPKVLIIYFT	15	15,15	1,82	0,24
62	NTYTGEPTYAADFKR	16	16,16	2,16	0,35
74	AEDTAVYYCAKYPHY	9	9,09	1,45	0,18

TABLA 5

WT	Posición	Sustituciones desinmunizantes candidatas
CDR-H2		
A	61	F, E, D
D	62	G, L, Q, T, K, R, E, H
K	64	S, V, Q
R	65	V, F, H, N, S, Q, K, I
CDR-H3		
Y	98	H

TABLA 6

89

SEQ ID NO:	28	31	97	99	100a	k _{on} (1/Ms)	k _{off} (1/s)	K _D (M)	Δ k _{on}	Δ k _{off}	Δ K _D
82		F	D	D	G	2,08E+06	1,72E-04	8,27E-11	11,6	2,0	23,8
83		F	P	D	G	1,88E+06	1,94E-04	1,06E-10	10,4	1,8	18,6
84		F	P	E		1,60E+06	1,82E-04	1,28E-10	8,9	1,9	15,3
85		F	E	E		1,25E+06	1,75E-04	1,40E-10	6,9	2,0	14,1
86		F	D	E		1,33E+06	2,38E-04	1,79E-10	7,4	1,5	11,0
87		F	E	D	G	8,24E+05	1,60E-04	2,04E-10	4,6	2,2	9,6
88		F		D	G	9,68E+05	2,73E-04	2,82E-10	5,4	1,3	7,0
89		F	P	D		9,04E+05	2,49E-04	2,82E-10	5,0	1,4	7,0
90		F	D		G	6,45E+05	1,97E-04	3,11E-10	3,6	1,8	6,3
91		F				2,11E+05	1,21E-04	5,75E-10	1,2	2,9	3,4
92			P			3,67E+05	2,56E-04	7,08E-10	2,0	1,4	2,8
93			E			2,92E+05	2,25E-04	7,61E-10	1,6	1,6	2,6
94		F			G	2,58E+05	2,20E-04	8,57E-10	1,4	1,6	2,3
95			D			2,62E+05	3,96E-04	1,54E-09	1,5	0,9	1,3
96		F	P		G	2,25E+05	3,79E-04	1,75E-09	1,3	0,9	1,1
WT	T	N	H	Y	S	1,80E+05	3,52E-04	1,97E-09	1,0	1,0	1,0

TABLA 7

100

WT	Posición	Sustituciones en la cadena pesada con afinidad aumentada
CDR-H1		
T	28	P
N	31	F, G, M
CDR-H3		
H	97	A, D, E, P, Q, S, T
Y	99	D, E
S	100a	D, E, G, V

TABLA 8

WT	Posición	Sustituciones en la cadena pesada con afinidad aumentada
CDR-H1		
T	30	W, R, Q
CDR-H2		
Y	53	F
T	58	F
A	61	G, K, R, H, Y
K	64	G, E
R	65	L, T, A, E, D
CDR-H3		
Y	98	F
Y	100e	F

TABLA 9

107

WT	Posición	Sustituciones neutras en la cadena pesada
CDR-H1		
T	30	I, M, V
N	31	Y, S, A, Q
CDR-H2		
A	61	F, E, D
D	62	G, L, Q, T, K, R, E, H
K	64	S, V, Q
R	65	V, F, H, N, S, Q, K, I
CDR-H3		
Y	98	H

TABLA 10

WT	Posición	Sustituciones neutras en la cadena liviana
CDR-L1		
S	24	R, W, G
S	26	V
S	30	G
N	31	L, S
CDR-L2		
L	54	M
H	55	R
S	56	G, R
CDR-L3		
T	93	D, E, S

TABLA 11

[illegible]

• •

V#	CDR-H1										CDR-H2																CDR-H3															
	G	Y	T	F	T	N	Y	G	M	W	I	N	T	Y	T	G	E	P	T	Y	A	A	D	F	K	R	Y	P	H	Y	Y	G	S	S	H	W	Y	F	D	V		
29																																										L
30																																		R		Q						
31																																		G		C						
32																																		T		T						
33																										D										Y						
34																																				Y						
35																										R								A								
36																																		A								
37																															YS	GER	ES									
38																														YA	REG	G										
39																														YS	VEG	G										
40																																		G								
41																																	QSE	GR								
42																														YH	TRG	GS										
43																																	LTD	HK								
44																														YR	GDR	K										
45																														YE	KQR	K										
46																																	SDE	KK								
47																														YL	KDG	KK										
48																																	KED	KK								
49																																	LRD	KK								
50																																	LSD	KK								

TABLA 12-2

for

V#	CDR-H1										CDR-H2																CDR-H3																
	G	Y	T	F	T	N	Y	G	M	W	I	N	T	Y	T	G	E	P	T	Y	A	A	D	F	K	R	Y	P	H	Y	Y	G	S	S	H	W	Y	F	D	V			
51																																RRD	KK										
52																																- SHQ	KR										
53																																YTY	D	KS									
54																																YR	GQR	KS									
55																																YE	KER	KS									
56																																	QDE	KS									
57																																YE	RDG	KS									
58																																	RNE	KS									
59																																YQ	RNG	KS									
60																																	RTE	KS									
61																																	VND	KT									
62																																YL	KDG	MS									
63																																		N									
64																																	PS	PRG									
65																																YQ	NEG	PS									
66																												Y						R									
67																																		R									
68																																	RDE	RE									
69																																	- SHE	RK									
70																																	LKD	RK									

TABLA 12-3

567

V#	CDR-H1										CDR-H2														CDR-H3																	
	G	Y	T	F	T	N	Y	G	M	W	I	N	T	Y	T	G	E	P	T	Y	A	A	D	F	K	R	Y	P	H	Y	Y	G	S	S	H	W	Y	F	D	V		
71																																LNE	RK									
72																																-SNE	RK									
73																																VNE	RK									
74																																VTD	RK									
75																																GNH	RS									
76																													YL	KDG	RS											
77																														YL	KDR	RS										
78																																QRD	RS									
79																																RDE	RS									
80																														YE	RDG	RS										
81																														YL	RDG	RS										
82																																RNE	RS									
83																																-SHE	RV									
84																															YQ	KQ	SKS									
85																											Y							T								
86																																		T								
87																																VEE	TE									
88																															YV	GE	TS									
89																											X						X									
90																															YL	ADR										
91																															YV	GEQ										
92																															YV	GET										
93																															YL	KDK										

TABLA 12-4

901

V#	CDR-H1										CDR-H2														CDR-H3																	
	G	Y	T	F	T	N	Y	G	M	W	I	N	T	Y	T	G	E	P	T	Y	A	A	D	F	K	R	Y	P	H	Y	Y	G	S	S	H	W	Y	F	D	V		
94																														YL	KDR											
95																														YA	KER											
96																															LG											
97																														YK	NDK											
98																														YL	NDK											
99																														YV	NER											
100																														YA	RDR											
101																														YY	RDR											
102																																										
103																											P		Y		N											
104																													Y													
105																																										
106																													Y													
107																											T															
108																													Y						R							
109			D																																R							
110																																			R							
111			D																														VNE	RK								
112									I																				Y					T								
113																													Y					T								

TABLA 12-5

101

V#	CDR-H1										CDR-H2														CDR-H3																	
	G	Y	T	F	T	N	Y	G	M	W	I	N	T	Y	T	G	E	P	T	Y	A	A	D	F	K	R	Y	P	H	Y	Y	G	S	S	H	W	Y	F	D	V		
114																													Y													
115						H																	DK			DR																
116									I																																	
117			D																																							
118									I																																	
119	A																																									
120																																									A	
121		F			S	S		A	MS	V		S	G	D	G	G	S	T	Y	Y		D	S	V		G														Y		
122																																									A	
123																																									A	
124																																									A	
125																																									A	
126																																									A	
127																																									A	
128									I																			Y	R	Q	R	K	G									
129									I																			Y		R	Q	R	G									
130									I																			Y		R	D	A										
131									I																			Y		R	N	A										
132									I																			Y				A										
133																																	A									
134									I																			Y		R		E										

TABLA 12-6

V#	CDR-H1										CDR-H2														CDR-H3																	
	G	Y	T	F	T	N	Y	G	M	W	I	N	T	Y	T	G	E	P	T	Y	A	A	D	F	K	R	Y	P	H	Y	Y	G	S	S	H	W	Y	F	D	V		
135									I																			Y		R	K	G										
136									I																			Y		R	S	G										
137									I																			Y		K		G										
138									I																			Y		I	A	K										
139									I																			Y		I	N	K										
140									I																			Y		R	D	N										
141									I																			Y		R	Q	N										
142									I																			Y			N	Q										
143									I																			Y		I	E	R										
144									I																			Y		T	N	R										
145									I																			Y		T	T	R										
146									I																			Y		T		R										
147									I																			Y		K	N	T										
148									I																			Y		R	N	T										
149									I																			Y		T	N	T										
150									I																			Y		R												
151									I																			Y		W		T										
152			D			H			I					W														Y				T										
153			D			H			I																			Y				T										
154									I																			Y				T										
155									I																							T										
156									I																							A										
157									I																			Y		K	E											

TABLA 12-7

V#	CDR-H1										CDR-H2													CDR-H3																	
	G	Y	T	F	T	N	Y	G	M	W	I	N	T	Y	T	G	E	P	T	Y	A	A	D	F	K	R	Y	P	H	Y	Y	G	S	S	H	W	Y	F	D	V	
158									I																			Y		R	N										
159									I																			Y		R	Q										
160																														A											
161									I																			Y		E											
162									I																			Y		T											
163																														A											
164																													A												
165									I																			Y													
166																												A													
167																																									
168																											A														
169																																									
170																																									
171																																									
172																																									
173																																									
174																																									
175																																									
176																																									
177									I					W																											
178									I					W																											
179																																									
180																																									
181									I					W																											

TABLA 12-8

V#	CDR-H1										CDR-H2																CDR-H3															
	G	Y	T	F	T	N	Y	G	M		W	I	N	T	Y	T	G	E	P	T	Y	A	A	D	F	K	R	Y	P	H	Y	Y	G	S	S	H	W	Y	F	D	V	
182															A																											
183								I						W																												
184														A																												
185													A																													
186												A																														
187											A																															
188								A																																		
189			D			G	H		I																																	
190			E			Q	H		I																																	
191			D			S	H		I																																	
192			E			S	H		I																																	
193			D			H			I																																	
194			E			H			I																																	
195																																										
196			D																																							
197									MA																																	
198									A																																	
199							A																																			
200							A																																			
201																																										
202			A																																							
203		A																																								
204							A																																			
205																					A																					

TABLA 12-9

111

V#	CDR-L1											CDR-L2						CDR-L3									
	S	A	S	Q	D	I	S	N	Y	L	N	F	T	S	S	L	H	S	Q	Q	Y	S	T	V	P	W	T
206																									F		
207																						NS		-			
208																						YS		-			
209																					SY			-			
210																							A				
211																							N				
212																							S				
213	A																										
214		A																									
215			A																								
216				A																							
217					A																						
218						A																					
219							A																				
220								A																			
221									A																		
222										A																	
223											A																
224												A															
225													A														
226														A													
227															A												
228																A											
229																	A										
230																		A									
231																			A								
232																				A							
233																					A						
234																						A					
235																							A				
236																								A			
237																									A		
238																										A	
239																											A
240	R		N	E	Q	L																					
241	R		N	E	Q																						
242	R				S						A	A	A				E					N	S	L			

TABLA 13

1/2

SEQ ID NO:	N	I	Y	I	G	E	P	I	Y	A	A	D	F	K	R	# de respondedores*	% de respondedores	IE promedio
62																5	5,38	1,67
97			F													9	9,68	1,59
98											F					6	6,45	1,51
99											E					5	5,38	1,82
100											D					7	7,53	1,39
101												G				6	6,45	1,45
102												L				8	8,60	1,44
103												Q				10	10,75	1,46
104												T				4	4,30	1,40
105												K				5	5,38	1,50
106												R				4	4,30	1,32
107												E				5	5,38	1,32
108												H				4	4,30	1,21
109														S		2	2,15	1,22
110														V		4	4,30	1,19
111														Q		2	2,15	1,13
112															V	10	10,75	1,59
113															F	13	13,98	1,82
114															H	9	9,68	1,55
115															N	7	7,53	1,41
116															S	4	4,30	1,24
117															Q	7	7,53	1,33
118															K	4	4,30	1,27
119															I	9	9,68	2,06
	* n= 93																	

TABLA 14

SEQ ID NO:	N	I	Y	I	G	E	P	I	Y	A	A	D	E	K	R	# de respondedores*	% de respondedores	IE promedio
120			F								F					7	7,53	1,68
121			F								E					8	8,60	1,51
122			F								D					4	4,30	1,34
123			F									G				3	3,23	1,19
124			F									L				6	6,45	1,29
125			F									Q				6	6,45	1,34
126			F									T				6	6,45	1,34
127			F									K				9	9,68	1,48
128			F									R				8	8,60	1,67
129			F									E				10	10,75	1,61
130			F									H				8	8,60	1,64
131			F											S		4	4,30	1,21
132			F											V		3	3,23	1,12
133			F											Q		2	2,15	1,15
134			F												V	6	6,45	1,41
135			F												F	12	12,90	1,65
136			F												H	11	11,83	1,70
137			F												N	9	9,68	1,80
138			F												S	11	11,83	1,80
139			F												Q	7	7,53	1,34
140			F												K	4	4,30	1,17
141			F												I	5	5,38	1,36
62																6	6,45	1,33
* n= 93																		

TABLA 14 (Cont.)

114

SEQ ID NO:	A	E	D	T	A	V	Y	Y	C	A	K	<u>Y</u>	<u>P</u>	<u>H</u>	<u>Y</u>	# de respondedores*	% de respondedores	IE promedio
74																7	7,53	1,45
142														D		11	11,83	1,62
143														E		6	6,45	1,43
144														P		10	10,75	1,97
145															F	4	4,30	1,26
146														D	F	5	5,38	1,22
147														E	F	1	1,08	1,09
148														P	F	5	5,38	1,22
74																6	6,45	1,34
* n= 93																		

TABLA 15

SEQ ID NO:	Q	Q	K	P	G	K	A	P	K	V	L	I	Y	F	I	# de respondedores*	% de respondedores	IE promedio
25																24	25,81	3,69
149										L						18	19,35	2,05
150														D		6	6,45	1,42
151														S		6	6,45	1,43
152														G		2	2,15	1,27
153														A		2	2,15	1,17
154															A	2	2,15	1,16
155														D	A	7	7,53	1,87
156														S	A	8	8,60	2,34
157														G	A	8	8,60	1,63
158														A	A	11	11,83	1,77
159										L				D		12	12,90	1,49
160										L				S		3	3,23	1,25
161										L				G		4	4,30	1,27
162										L				A		5	5,38	1,28
163										L					A	23	24,73	2,49
164										L				D	A	9	9,68	2,23
165										L				S	A	10	10,75	1,39
166										L				G	A	6	6,45	1,52
167										L				A	A	5	5,38	1,27
25																14	15,05	2,30
* n= 93																		

TABLA 16

116

SEQ ID NO:				
VH	CDR2 16%/2,16 IE	# de respondedores*	%	IE
62	NTYTGEPTYAADFKR	5	5,38	1,67
109	NTYTGEPTYAADFSR	2	2,15	1,22
111	NTYTGEPTYAADFQR	2	2,15	1,13
133	NTFTGEPTYAADFQR	2	2,15	1,15
62	NTYTGEPTYAADFKR	6	6,45	1,33
VH	CDR3 9%/1,45 IE			
74	AEDTAVYYCAKYPHY	7	7,53	1,45
143	AEDTAVYYCAKYPEF	1	1,08	1,09
74	AEDTAVYYCAKYPHY	6	6,45	1,34
VL	CDR2 15%/1,45 IE			
25	QQKPGKAPKVLIIYFT	24	25,81	3,69
154	QQKPGKAPKVLIIYFA	2	2,15	1,16
25	QQKPGKAPKVLIIYFT	14	15,05	2,30
	* n= 93			

TABLA 17

117

Mutantes simples de la región variable	MFI
WT	194,78
VH K64Q	230,4
VH K64S	168,08
VH Y53F.K64Q	217,4
VH H97E.Y98F	310,32
VL T51A	295,93

TABLA 18

Mutantes combinados de la región variable	EC ₅₀
WT	152,4
VH K64Q/VL T51A	174,2
VH K64S/VL T51A	263,2
VH Y53F.K64Q/VL T51A	104
VH H97E.Y98F/VL T51A	26,22

TABLA 19

Variante N°	SEQ ID NOS		
	CDR-H1	CDR-H2	CDR-H3
1	n/a	4	237
2	n/a	190	238
3	n/a	191	238
4	n/a	192	238
5	n/a	193	238
6	n/a	194	238
7	n/a	195	238
8	n/a	196	238
9	n/a	197	238
10	n/a	198	238
11	n/a	199	238
12	n/a	4	238
13	n/a	4	239
14	n/a	4	240
15	n/a	4	241
16	n/a	200	n/a
17	n/a	201	n/a
18	n/a	202	n/a
19	n/a	203	5
20	n/a	204	5
21	n/a	205	n/a
22	n/a	206	n/a
23	n/a	207	n/a
24	n/a	208	n/a
25	n/a	209	n/a
26	n/a	210	n/a
27	n/a	211	n/a
28	n/a	212	n/a

TABLA 20-1

119

Variante N°	SEQ ID NOS		
	CDR-H1	CDR-H2	CDR-H3
29	n/a	n/a	242
30	n/a	n/a	243
31	n/a	n/a	244
32	n/a	n/a	245
33	n/a	n/a	246
34	n/a	n/a	247
35	n/a	n/a	248
36	n/a	n/a	249
37	n/a	n/a	250
38	n/a	n/a	251
39	n/a	n/a	252
40	n/a	n/a	253
41	n/a	n/a	254
42	n/a	n/a	255
43	n/a	n/a	256
44	n/a	n/a	257
45	n/a	n/a	258
46	n/a	n/a	259
47	n/a	n/a	260
48	n/a	n/a	261
49	n/a	n/a	262
50	n/a	n/a	263

TABLA 20-2

120

Variante N°	SEQ ID NOS		
	CDR-H1	CDR-H2	CDR-H3
51	n/a	n/a	264
52	n/a	n/a	265
53	n/a	n/a	266
54	n/a	n/a	267
55	n/a	n/a	268
56	n/a	n/a	269
57	n/a	n/a	270
58	n/a	n/a	271
59	n/a	n/a	272
60	n/a	n/a	273
61	n/a	n/a	274
62	n/a	n/a	275
63	n/a	n/a	276
64	n/a	n/a	277
65	n/a	n/a	278
66	n/a	n/a	279
67	n/a	n/a	280
68	n/a	n/a	281
69	n/a	n/a	282
70	n/a	n/a	283

TABLA 20-3

Variante N°	SEQ ID NOS		
	CDR-H1	CDR-H2	CDR-H3
71	n/a	n/a	284
72	n/a	n/a	285
73	n/a	n/a	286
74	n/a	n/a	287
75	n/a	n/a	288
76	n/a	n/a	289
77	n/a	n/a	290
78	n/a	n/a	291
79	n/a	n/a	292
80	n/a	n/a	293
81	n/a	n/a	294
82	n/a	n/a	295
83	n/a	n/a	296
84	n/a	n/a	297
85	n/a	n/a	298
86	n/a	n/a	299
87	n/a	n/a	300
88	n/a	n/a	301
89	n/a	n/a	302
90	n/a	n/a	303
91	n/a	n/a	304
92	n/a	n/a	305
93	n/a	n/a	306

TABLA 20-4

122

Variante N°	SEQ ID NOS		
	CDR-H1	CDR-H2	CDR-H3
94	n/a	n/a	307
95	n/a	n/a	308
96	n/a	n/a	309
97	n/a	n/a	310
98	n/a	n/a	311
99	n/a	n/a	312
100	n/a	n/a	313
101	n/a	n/a	314
102	n/a	n/a	315
103	n/a	n/a	316
104	n/a	n/a	317
105	n/a	n/a	318
106	n/a	n/a	319
107	n/a	n/a	320
108	411	4	321
109	168	4	322
110	411	4	323
111	168	4	324
112	169	4	325
113	411	4	326

TABLA 20-5

123

Variante N°	SEQ ID NOS		
	CDR-H1	CDR-H2	CDR-H3
114	411	4	321
115	170	213	n/a
116	169	4	5
117	168	4	n/a
118	169	n/a	n/a
119	171	4	5
120	411	4	327
121	172	214	328
122	411	4	329
123	411	4	330
124	411	4	331
125	411	4	332
126	411	4	333
127	411	4	334
128	169	4	335
129	169	4	336
130	169	4	337
131	169	4	338
132	169	4	339
133	411	4	340
134	169	4	341

TABLA 20-6

Variante N°	SEQ ID NOS		
	CDR-H1	CDR-H2	CDR-H3
135	169	4	342
136	169	4	343
137	169	4	344
138	169	4	345
139	169	4	346
140	169	4	347
141	169	4	348
142	169	4	349
143	169	4	350
144	169	4	351
145	169	4	352
146	169	4	353
147	169	4	354
148	169	4	355
149	169	4	356
150	169	4	357
151	169	4	358
152	173	215	359
153	173	4	359
154	169	4	359
155	169	4	241
156	411	4	360
157	169	4	361

TABLA 20-7

179

Variante N°	SEQ ID NOS		
	CDR-H1	CDR-H2	CDR-H3
158	169	4	362
159	169	4	363
160	411	4	364
161	169	4	365
162	169	4	366
163	411	4	367
164	411	4	368
165	169	4	369
166	411	4	370
167	411	4	371
168	411	216	5
169	411	217	5
170	411	218	5
171	411	219	5
172	411	220	5
173	411	221	5
174	411	222	5
175	411	223	5
176	411	224	5
177	169	225	5
178	169	226	5
179	411	227	5
180	411	228	5
181	169	229	5

TABLA 20-8

126

	SEQ ID NOS		
Variante N°	CDR-H1	CDR-H2	CDR-H3
182	411	230	5
183	169	231	5
184	411	232	5
185	411	233	5
186	411	234	5
187	411	235	5
188	174	4	5
189	175	4	5
190	176	4	5
191	177	4	5
192	178	4	5
193	173	4	5
194	179	4	5
195	180	4	5
196	181	4	5
197	182	4	5
198	183	4	5
199	184	4	5
200	185	4	5
201	186	4	5
202	187	4	5
203	188	4	5
204	189	4	5
205	411	236	5

TABLA 20-9

127

Variante #	SEQ ID NOS		
	CDR-L1	CDR-L2	CDR-L3
206	6	7	394
207	n/a	n/a	395
208	n/a	n/a	396
209	n/a	n/a	397
210	n/a	n/a	398
211	n/a	n/a	399
212	n/a	n/a	400
213	372	7	8
214	373	7	8
215	374	7	8
216	375	7	8
217	376	7	8
218	377	7	8
219	378	7	8
220	379	7	8
221	380	7	8
222	381	7	8
223	382	7	8
224	6	386	8
225	6	387	8
226	6	388	8
227	6	389	8
228	6	390	8
229	6	391	8
230	6	392	8
231	6	7	401
232	6	7	402
233	6	7	403
234	6	7	404
235	6	7	405
236	6	7	406
237	6	7	407
238	6	7	408
239	6	7	409
240	383	7	8
241	384	7	8
242	385	393	410

TABLA 20-10

128

Bevacizumab (Avastin®) VH (SEQ ID NO:1)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTNYGMNWVRQAPGKGLEWVGWINTYTGEPTY
AADFKRRFTFSLDTSKSTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYPHYYGSSHWYFDVWGQGLVT
VSS

Bevacizumab (Avastin®) VL (SEQ ID NO:2)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCSASQDISNYLNWYQQKPGKAPKVLIIYFTSSLHSGVPS
RFGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYSTVPWTFGQGTKVEIKR

FIGURA 1A

Cadena del anticuerpo	CDR N°	Secuencia	SEQ ID NO.
Pesada	1	GYTFTNYGMN	3
Pesada	2	WINTYTGEPTYAADFKR	4
Pesada	3	YPHYYGSSHWYFDV	5
Liviana	1	SASQDISNYLN	6
Liviana	2	FTSSLHS	7
Liviana	3	QQYSTVPWT	8

FIGURA 1B

129

Ranibizumab (Lucentis®) VH (SEQ ID NO:9)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYDFTHYGMNWVRQAPGKGLEWVGWINTYTGEPTY
AADEFKRRFTFSLDTSKSTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYPYYYGTSHWYFDVWGQGT

Ranibizumab (Lucentis®) VL (SEQ ID NO:10)

DIQLTQSPSSLSASVGDRVITTCSASQDISNYLNWYQQKPGKAPKVLIIYFTSSLHSGVPS
RFGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYSTVPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPP
SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS

FIGURA 1C

Cadena del anticuerpo	CDR N°	Secuencia	SEQ ID NO.
Pesada	1	GYDFTHYGMN	11
Pesada	2	WINTYTGEPTYAADEFKR	4
Pesada	3	YPYYYGTSHWYFDV	12
Liviana	1	SASQDISNYLN	6
Liviana	2	FTSSLHS	7
Liviana	3	QQYSTVPWT	8

FIGURA 1D

130

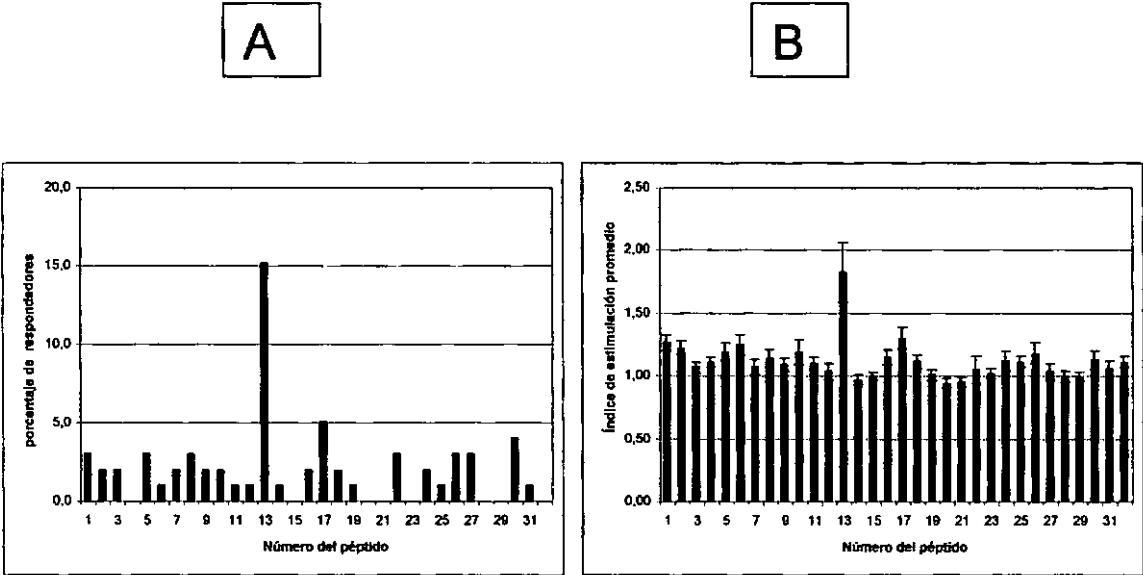


Figura 2A-2B

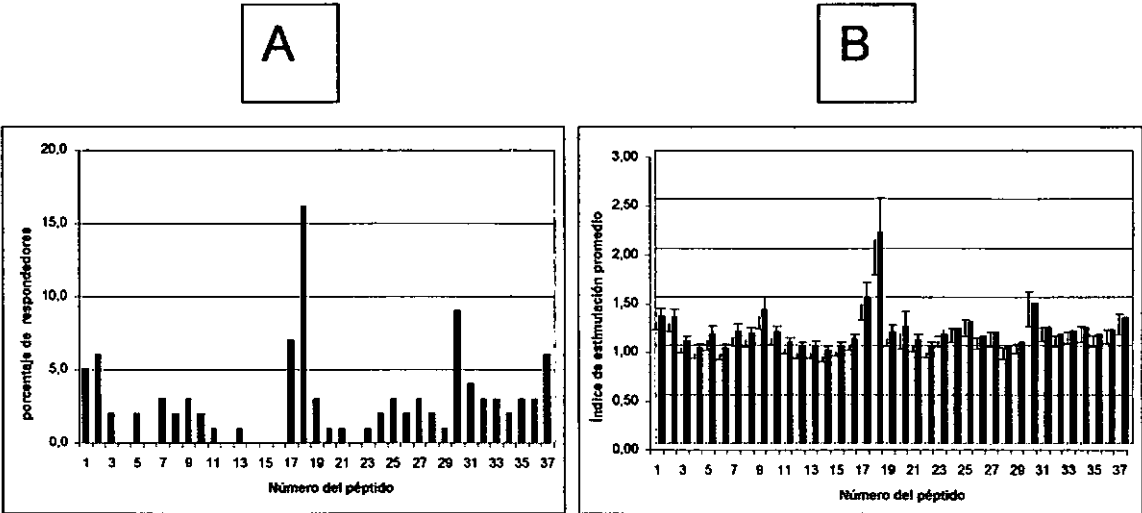


Figura 3A-3B

132

FIGURA 4A

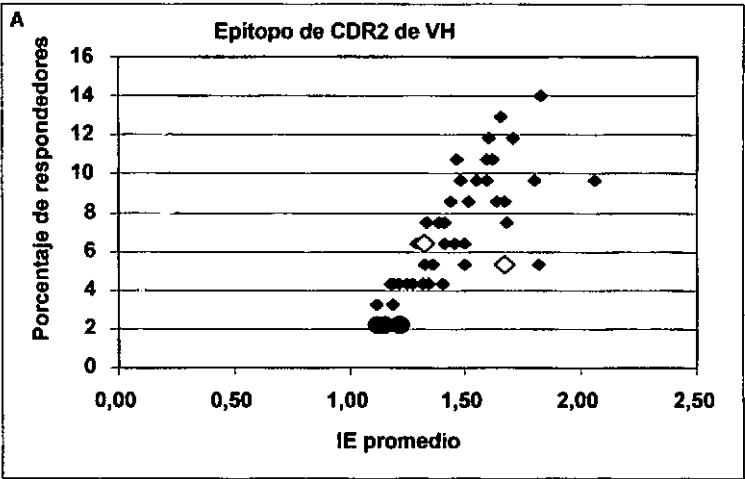


FIGURA 4B

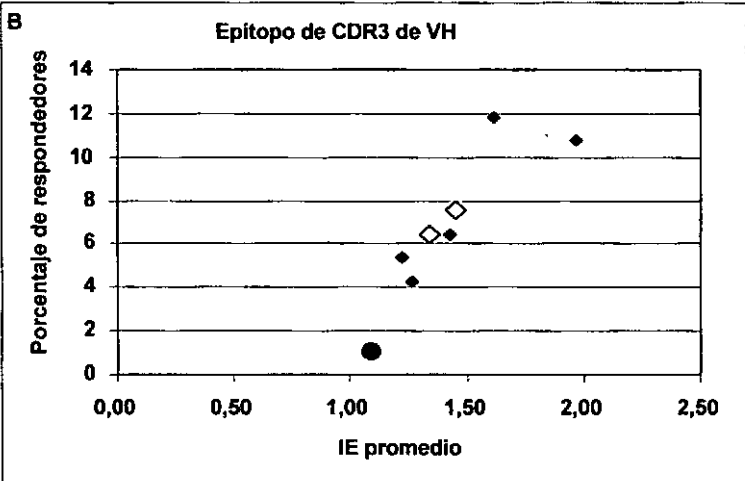
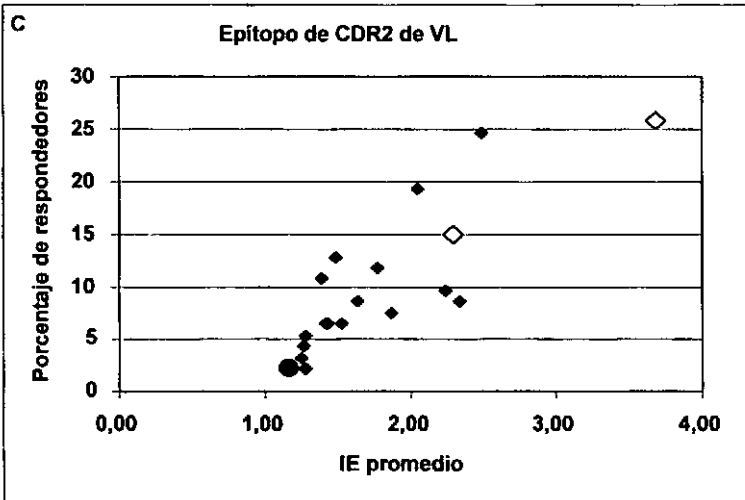


FIGURA 4C



133

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> FACET BIOTECH CORPORATION

<120> ANTICUERPOS ANTI-VEGF Y SUS USOS

<130> 381493-223WO (104004)

<140>

<141>

<150> 61/218,005

<151> 2009-06-17

<160> 412

<170> PatentIn versión 3.5

<210> 1

<211> 123

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 1

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	Tyr	Thr	Phe	Thr	Asn	Tyr
			20					25					30		

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

Gly	Trp	Ile	Asn	Thr	Tyr	Thr	Gly	Glu	Pro	Thr	Tyr	Ala	Ala	Asp	Phe
	50					55					60				

Lys	Arg	Arg	Phe	Thr	Phe	Ser	Leu	Asp	Thr	Ser	Lys	Ser	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	

Ala	Lys	Tyr	Pro	His	Tyr	Tyr	Gly	Ser	Ser	His	Trp	Tyr	Phe	Asp	Val
			100					105					110		

Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser
		115					120			

<210> 2

<211> 108

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

134

<400> 2

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 Ser Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
20 25 30

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

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

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

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

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

<210> 3

<211> 10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 3

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

<210> 4

<211> 17

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 4

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

Arg

<210> 5

<211> 14

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 5
 Tyr Pro His Tyr Tyr Gly Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
 1 5 10

<210> 6
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 6
 Ser Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn
 1 5 10

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

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 7
 Phe Thr Ser Ser Leu His Ser
 1 5

<210> 8
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 8
 Gln Gln Tyr Ser Thr Val Pro Trp Thr
 1 5

<210> 9
 <211> 231
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Polipéptido sintético"

<400> 9
 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 Tyr Asp Phe Thr His Tyr
 20 25 30

136

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

Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe
 50 55 60

Lys Arg Arg Phe Thr Phe Ser Leu Asp Thr Ser Lys Ser 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

Ala Lys Tyr Pro Tyr Tyr Tyr Gly Thr Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
 100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
 115 120 125

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

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

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

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

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

Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys
 210 215 220

Ser Cys Asp Lys Thr His Leu
 225 230

<210> 10

<211> 214

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 10

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

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

137

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

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

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser Thr Val Pro Trp
 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> 11

<211> 10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 11

Gly Tyr Asp Phe Thr His Tyr Gly Met Asn
 1 5 10

<210> 12

<211> 14

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 12
 Tyr Pro Tyr Tyr Tyr Gly Thr Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
 1 5 10

<210> 13
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 13
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val
 1 5 10 15

<210> 14
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 14
 Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg
 1 5 10 15

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

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 15
 Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile
 1 5 10 15

<210> 16
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 16
 Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser
 1 5 10 15

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

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 17
 Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Gln
 1 5 10 15

<210> 18
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 18
 Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Gln Asp Ile Ser
 1 5 10 15

<210> 19
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 19
 Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu
 1 5 10 15

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

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 20
 Thr Cys Ser Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr
 1 5 10 15

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

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 21
 Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys
 1 5 10 15

<210> 22
 <211> 15
 <212> PRT

140

: }

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 22

Asp	Ile	Ser	Asn	Tyr	Leu	Asn	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys
1				5					10					15

<210> 23

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 23

Asn	Tyr	Leu	Asn	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys
1			5					10						15

<210> 24

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 24

Asn	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Val	Leu	Ile
1			5					10						15

<210> 25

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 25

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

<210> 26

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 26

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

<210> 27

<211> 15

147

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 27

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

<210> 28

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 28

Val	Leu	Ile	Tyr	Phe	Thr	Ser	Ser	Leu	His	Ser	Gly	Val	Pro	Ser
1				5					10					15

<210> 29

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 29

Tyr	Phe	Thr	Ser	Ser	Leu	His	Ser	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser
1				5					10					15

<210> 30

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 30

Ser	Ser	Leu	His	Ser	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly
1				5					10					15

<210> 31

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 31

His	Ser	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr
1				5					10					15

<210> 32

142

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

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 32
 Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
 1 5 10 15

<210> 33
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 33
 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
 1 5 10 15

<210> 34
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 34
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu
 1 5 10 15

<210> 35
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 35
 Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu
 1 5 10 15

<210> 36
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 36
 Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala
 1 5 10 15

143

<210> 37
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 37
 Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr
 1 5 10 15

<210> 38
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 38
 Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln
 1 5 10 15

<210> 39
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 39
 Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser Thr
 1 5 10 15

<210> 40
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 40
 Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser Thr Val Pro Trp
 1 5 10 15

<210> 41
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

144

<400> 41

Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Tyr	Ser	Thr	Val	Pro	Trp	Thr	Phe	Gly
1			5						10					15

<210> 42

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 42

Cys	Gln	Gln	Tyr	Ser	Thr	Val	Pro	Trp	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr
1				5					10					15

<210> 43

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 43

Tyr	Ser	Thr	Val	Pro	Trp	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Val	Glu
1				5					10					15

<210> 44

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 44

Val	Pro	Trp	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys	Arg
1				5					10					15

<210> 45

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 45

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

<210> 46

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

145

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 46
 Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu
 1 5 10 15

<210> 47
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 47
 Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser
 1 5 10 15

<210> 48
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 48
 Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala
 1 5 10 15

<210> 49
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 49
 Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr
 1 5 10 15

<210> 50
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 50
 Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr
 1 5 10 15

146

<210> 51
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 51
 Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr Gly
 1 5 10 15

<210> 52
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 52
 Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr Gly Met Asn Trp
 1 5 10 15

<210> 53
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 53
 Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr Gly Met Asn Trp Val Arg Gln
 1 5 10 15

<210> 54
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 54
 Thr Phe Thr Asn Tyr Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
 1 5 10 15

<210> 55
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente

147

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

<400> 55

Asn	Tyr	Gly	Met	Asn	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu
1				5					10					15

<210> 56

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 56

Met	Asn	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
1				5					10					15

<210> 57

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 57

Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	Gly	Trp	Ile
1				5					10					15

<210> 58

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 58

Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	Gly	Trp	Ile	Asn	Thr	Tyr
1				5					10					15

<210> 59

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 59

Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	Gly	Trp	Ile	Asn	Thr	Tyr	Thr	Gly	Glu
1				5					10					15

<210> 60

148

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

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 60
 Glu Trp Val Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr
 1 5 10 15

<210> 61
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 61
 Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp
 1 5 10 15

<210> 62
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 62
 Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe Lys Arg
 1 5 10 15

<210> 63
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 63
 Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe Lys Arg Arg Phe Thr
 1 5 10 15

<210> 64
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

149

<400> 64
 Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe Lys Arg Arg Phe Thr Phe Ser Leu
 1 5 10 15

<210> 65
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 65
 Ala Ala Asp Phe Lys Arg Arg Phe Thr Phe Ser Leu Asp Thr Ser
 1 5 10 15

<210> 66
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 66
 Phe Lys Arg Arg Phe Thr Phe Ser Leu Asp Thr Ser Lys Ser Thr
 1 5 10 15

<210> 67
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 67
 Arg Phe Thr Phe Ser Leu Asp Thr Ser Lys Ser Thr Ala Tyr Leu
 1 5 10 15

<210> 68
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 68
 Phe Ser Leu Asp Thr Ser Lys Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn
 1 5 10 15

<210> 69
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

150

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 69
 Asp Thr Ser Lys Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg
 1 5 10 15

<210> 70
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 70
 Lys Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp
 1 5 10 15

<210> 71
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 71
 Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
 1 5 10 15

<210> 72
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 72
 Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 1 5 10 15

<210> 73
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 73
 Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys Tyr
 1 5 10 15

151

<210> 74
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 74
 Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys Tyr Pro His Tyr
 1 5 10 15

<210> 75
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 75
 Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys Tyr Pro His Tyr Tyr Gly Ser
 1 5 10 15

<210> 76
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 76
 Tyr Tyr Cys Ala Lys Tyr Pro His Tyr Tyr Gly Ser Ser His Trp
 1 5 10 15

<210> 77
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 77
 Ala Lys Tyr Pro His Tyr Tyr Gly Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp
 1 5 10 15

<210> 78
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente

192

, <223>*/nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 78

Pro His Tyr Tyr Gly Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly
1 5 10 15

<210> 79

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 79

Tyr Gly Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr
1 5 10 15

<210> 80

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 80

Ser His Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
1 5 10 15

<210> 81

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 81

Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
1 5 10 15

<210> 82

<211> 123

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 82

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 Tyr Thr Phe Thr Phe Tyr
20 25 30

163

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

Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe
50 55 60

Lys Arg Arg Phe Thr Phe Ser Leu Asp Thr Ser Lys Ser 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

Ala Lys Tyr Pro Asp Tyr Asp Gly Gly Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 83

<211> 123

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 83

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 Tyr Thr Phe Thr Phe Tyr
20 25 30

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

Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe
50 55 60

Lys Arg Arg Phe Thr Phe Ser Leu Asp Thr Ser Lys Ser 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

Ala Lys Tyr Pro Pro Tyr Asp Gly Gly Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

154

<210> 84
 <211> 123
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Polipéptido sintético"

 <400> 84
 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 Tyr Thr Phe Thr Phe Tyr
 20 25 30

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

 Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe
 50 55 60

 Lys Arg Arg Phe Thr Phe Ser Leu Asp Thr Ser Lys Ser 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

 Ala Lys Tyr Pro Pro Tyr Glu Gly Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
 100 105 110

 Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

 <210> 85
 <211> 123
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Polipéptido sintético"

 <400> 85
 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 Tyr Thr Phe Thr Phe Tyr
 20 25 30

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

 Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe
 50 55 60

 Lys Arg Arg Phe Thr Phe Ser Leu Asp Thr Ser Lys Ser Thr Ala Tyr

<400> 87
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

196

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Phe Tyr
20 25 30

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

Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe
50 55 60

Lys Arg Arg Phe Thr Phe Ser Leu Asp Thr Ser Lys Ser 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

Ala Lys Tyr Pro Glu Tyr Asp Gly Gly Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 88

<211> 123

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 88

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 Tyr Thr Phe Thr Phe Tyr
20 25 30

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

Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe
50 55 60

Lys Arg Arg Phe Thr Phe Ser Leu Asp Thr Ser Lys Ser 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

Ala Lys Tyr Pro His Tyr Asp Gly Gly Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

157

115

120

<210> 89
 <211> 123
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Polipéptido sintético"

 <400> 89
 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 Tyr Thr Phe Thr Phe Tyr
 20 25 30

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

 Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe
 50 55 60

 Lys Arg Arg Phe Thr Phe Ser Leu Asp Thr Ser Lys Ser 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

 Ala Lys Tyr Pro Pro Tyr Asp Gly Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
 100 105 110

 Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 90
 <211> 123
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Polipéptido sintético"

 <400> 90
 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 Tyr Thr Phe Thr Phe Tyr
 20 25 30

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

 Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe
 50 55 60

1978

Lys Arg Arg Phe Thr Phe Ser Leu Asp Thr Ser Lys Ser 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

Ala Lys Tyr Pro Asp Tyr Tyr Gly Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 91

<211> 123

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 91

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 Tyr Thr Phe Thr Phe Tyr
20 25 30

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

Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe
50 55 60

Lys Arg Arg Phe Thr Phe Ser Leu Asp Thr Ser Lys Ser 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

Ala Lys Tyr Pro His Tyr Tyr Gly Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 92

<211> 123

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

199

<400> 92

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 Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
 20 25 30

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

Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe
 50 55 60

Lys Arg Arg Phe Thr Phe Ser Leu Asp Thr Ser Lys Ser 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

Ala Lys Tyr Pro Pro Tyr Tyr Gly Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
 100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 93

<211> 123

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 93

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 Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
 20 25 30

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

Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe
 50 55 60

Lys Arg Arg Phe Thr Phe Ser Leu Asp Thr Ser Lys Ser 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

Ala Lys Tyr Pro Glu Tyr Tyr Gly Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
 100 105 110

160

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 94

<211> 123

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 94

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Phe Tyr
20 25 30

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

Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe
50 55 60

Lys Arg Arg Phe Thr Phe Ser Leu Asp Thr Ser Lys Ser 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

Ala Lys Tyr Pro His Tyr Tyr Gly Gly Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 95

<211> 123

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 95

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 Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
20 25 30

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

167

Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe
50 55 60

Lys Arg Arg Phe Thr Phe Ser Leu Asp Thr Ser Lys Ser 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

Ala Lys Tyr Pro Asp Tyr Tyr Gly Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 96

<211> 123

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 96

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 Tyr Thr Phe Thr Phe Tyr
20 25 30

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

Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe
50 55 60

Lys Arg Arg Phe Thr Phe Ser Leu Asp Thr Ser Lys Ser 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

Ala Lys Tyr Pro Pro Tyr Tyr Gly Gly Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 97

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

162

<221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 97

Asn	Thr	Phe	Thr	Gly	Glu	Pro	Thr	Tyr	Ala	Ala	Asp	Phe	Lys	Arg
1				5					10				15	

<210> 98

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 98

Asn	Thr	Tyr	Thr	Gly	Glu	Pro	Thr	Tyr	Ala	Phe	Asp	Phe	Lys	Arg
1				5					10				15	

<210> 99

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 99

Asn	Thr	Tyr	Thr	Gly	Glu	Pro	Thr	Tyr	Ala	Glu	Asp	Phe	Lys	Arg
1				5					10				15	

<210> 100

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 100

Asn	Thr	Tyr	Thr	Gly	Glu	Pro	Thr	Tyr	Ala	Asp	Asp	Phe	Lys	Arg
1				5					10				15	

<210> 101

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 101

Asn	Thr	Tyr	Thr	Gly	Glu	Pro	Thr	Tyr	Ala	Ala	Gly	Phe	Lys	Arg
1				5					10				15	

163

<210> 102
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 102
 Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Leu Phe Lys Arg
 1 5 10 15

<210> 103
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 103
 Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Gln Phe Lys Arg
 1 5 10 15

<210> 104
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 104
 Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Thr Phe Lys Arg
 1 5 10 15

<210> 105
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 105
 Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Lys Phe Lys Arg
 1 5 10 15

<210> 106
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

104

<400> 106

Asn	Thr	Tyr	Thr	Gly	Glu	Pro	Thr	Tyr	Ala	Ala	Arg	Phe	Lys	Arg
1				5					10				15	

<210> 107

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 107

Asn	Thr	Tyr	Thr	Gly	Glu	Pro	Thr	Tyr	Ala	Ala	Glu	Phe	Lys	Arg
1				5					10				15	

<210> 108

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 108

Asn	Thr	Tyr	Thr	Gly	Glu	Pro	Thr	Tyr	Ala	Ala	His	Phe	Lys	Arg
1				5					10				15	

<210> 109

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 109

Asn	Thr	Tyr	Thr	Gly	Glu	Pro	Thr	Tyr	Ala	Ala	Asp	Phe	Ser	Arg
1				5					10				15	

<210> 110

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 110

Asn	Thr	Tyr	Thr	Gly	Glu	Pro	Thr	Tyr	Ala	Ala	Asp	Phe	Val	Arg
1				5					10				15	

<210> 111

<211> 15

<212> PRT

(65)

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 111

Asn	Thr	Tyr	Thr	Gly	Glu	Pro	Thr	Tyr	Ala	Ala	Asp	Phe	Gln	Arg
1				5					10				15	

<210> 112

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 112

Asn	Thr	Tyr	Thr	Gly	Glu	Pro	Thr	Tyr	Ala	Ala	Asp	Phe	Lys	Val
1				5					10				15	

<210> 113

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 113

Asn	Thr	Tyr	Thr	Gly	Glu	Pro	Thr	Tyr	Ala	Ala	Asp	Phe	Lys	Phe
1				5					10				15	

<210> 114

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 114

Asn	Thr	Tyr	Thr	Gly	Glu	Pro	Thr	Tyr	Ala	Ala	Asp	Phe	Lys	His
1				5					10				15	

<210> 115

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 115

Asn	Thr	Tyr	Thr	Gly	Glu	Pro	Thr	Tyr	Ala	Ala	Asp	Phe	Lys	Asn
-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

166

1 5 10 15

<210> 116
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 116
 Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe Lys Ser
 1 5 10 15

<210> 117
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 117
 Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe Lys Gln
 1 5 10 15

<210> 118
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 118
 Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe Lys Lys
 1 5 10 15

<210> 119
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 119
 Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe Lys Ile
 1 5 10 15

<210> 120
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>

167

<221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 120
 Asn Thr Phe Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Phe Asp Phe Lys Arg
 1 5 10 15

<210> 121
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 121
 Asn Thr Phe Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Glu Asp Phe Lys Arg
 1 5 10 15

<210> 122
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 122
 Asn Thr Phe Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Asp Asp Phe Lys Arg
 1 5 10 15

<210> 123
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 123
 Asn Thr Phe Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Gly Phe Lys Arg
 1 5 10 15

<210> 124
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 124
 Asn Thr Phe Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Leu Phe Lys Arg
 1 5 10 15

168

.<210> 125
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 125
 Asn Thr Phe Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Gln Phe Lys Arg
 1 5 10 15

<210> 126
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 126
 Asn Thr Phe Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Thr Phe Lys Arg
 1 5 10 15

<210> 127
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 127
 Asn Thr Phe Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Lys Phe Lys Arg
 1 5 10 15

<210> 128
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 128
 Asn Thr Phe Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Arg Phe Lys Arg
 1 5 10 15

<210> 129
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

169

<400> 129

Asn	Thr	Phe	Thr	Gly	Glu	Pro	Thr	Tyr	Ala	Ala	Glu	Phe	Lys	Arg
1				5					10					15

<210> 130

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 130

Asn	Thr	Phe	Thr	Gly	Glu	Pro	Thr	Tyr	Ala	Ala	His	Phe	Lys	Arg
1				5					10					15

<210> 131

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 131

Asn	Thr	Phe	Thr	Gly	Glu	Pro	Thr	Tyr	Ala	Ala	Asp	Phe	Ser	Arg
1				5					10					15

<210> 132

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 132

Asn	Thr	Phe	Thr	Gly	Glu	Pro	Thr	Tyr	Ala	Ala	Asp	Phe	Val	Arg
1				5					10					15

<210> 133

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 133

Asn	Thr	Phe	Thr	Gly	Glu	Pro	Thr	Tyr	Ala	Ala	Asp	Phe	Gln	Arg
1				5					10					15

<210> 134

<211> 15

<212> PRT

170

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 134

Asn	Thr	Phe	Thr	Gly	Glu	Pro	Thr	Tyr	Ala	Ala	Asp	Phe	Lys	Val
1				5				10					15	

<210> 135

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 135

Asn	Thr	Phe	Thr	Gly	Glu	Pro	Thr	Tyr	Ala	Ala	Asp	Phe	Lys	Phe
1				5				10					15	

<210> 136

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 136

Asn	Thr	Phe	Thr	Gly	Glu	Pro	Thr	Tyr	Ala	Ala	Asp	Phe	Lys	His
1				5				10					15	

<210> 137

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 137

Asn	Thr	Phe	Thr	Gly	Glu	Pro	Thr	Tyr	Ala	Ala	Asp	Phe	Lys	Asn
1				5				10					15	

<210> 138

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 138

Asn	Thr	Phe	Thr	Gly	Glu	Pro	Thr	Tyr	Ala	Ala	Asp	Phe	Lys	Ser
-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

171

1 5 10 15

<210> 139
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 139
 Asn Thr Phe Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe Lys Gln
 1 5 10 15

<210> 140
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 140
 Asn Thr Phe Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe Lys Lys
 1 5 10 15

<210> 141
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 141
 Asn Thr Phe Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe Lys Ile
 1 5 10 15

<210> 142
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 142
 Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys Tyr Pro Asp Tyr
 1 5 10 15

<210> 143
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>

172

<221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 143
 Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys Tyr Pro Glu Tyr
 1 5 10 15

<210> 144
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 144
 Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys Tyr Pro Pro Tyr
 1 5 10 15

<210> 145
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 145
 Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys Tyr Pro His Phe
 1 5 10 15

<210> 146
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 146
 Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys Tyr Pro Asp Phe
 1 5 10 15

<210> 147
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 147
 Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys Tyr Pro Glu Phe
 1 5 10 15

173

<210> 148
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 148
 Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys Tyr Pro Pro Phe
 1 5 10 15

<210> 149
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 149
 Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Phe Thr
 1 5 10 15

<210> 150
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 150
 Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Val Leu Ile Tyr Asp Thr
 1 5 10 15

<210> 151
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 151
 Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Val Leu Ile Tyr Ser Thr
 1 5 10 15

<210> 152
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

174

<400> 152

Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Val Leu Ile Tyr Gly Thr
 1 5 10 15

<210> 153

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 153

Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Val Leu Ile Tyr Ala Thr
 1 5 10 15

<210> 154

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 154

Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Val Leu Ile Tyr Phe Ala
 1 5 10 15

<210> 155

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 155

Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Val Leu Ile Tyr Asp Ala
 1 5 10 15

<210> 156

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 156

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

<210> 157

<211> 15

<212> PRT

175

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 157

Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Val Leu Ile Tyr Gly Ala
1 5 10 15

<210> 158

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 158

Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Val Leu Ile Tyr Ala Ala
1 5 10 15

<210> 159

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 159

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

<210> 160

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 160

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

<210> 161

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 161

Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Gly Thr

$\langle 220 \rangle$

777

<221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 166
 Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Gly Ala
 1 5 10 15

<210> 167
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 167
 Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala
 1 5 10 15

<210> 168
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 168
 Gly Tyr Asp Phe Thr Asn Tyr Gly Met
 1 5

<210> 169
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 169
 Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr Gly Ile
 1 5

<210> 170
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 170
 Gly Tyr Thr Phe Thr His Tyr Gly Met
 1 5

178

<210> 171
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 171
 Ala Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr Gly Met
 1 5

<210> 172
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 172
 Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met Ser
 1 5 10

<210> 173
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 173
 Gly Tyr Asp Phe Thr His Tyr Gly Ile
 1 5

<210> 174
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 174
 Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr Gly Ala
 1 5

<210> 175
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

179

<400> 175
 Gly Tyr Asp Phe Gly His Tyr Gly Ile
 1 5

<210> 176
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 176
 Gly Tyr Glu Phe Gln His Tyr Gly Ile
 1 5

<210> 177
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 177
 Gly Tyr Asp Phe Ser His Tyr Gly Ile
 1 5

<210> 178
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 178
 Gly Tyr Glu Phe Ser His Tyr Gly Ile
 1 5

<210> 179
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 179
 Gly Tyr Glu Phe Thr His Tyr Gly Ile
 1 5

<210> 180
 <211> 9
 <212> PRT

180

, <213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 180

Gly Tyr Thr Phe Thr His Tyr Gly Ile

1

5

<210> 181

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 181

Gly Tyr Asp Phe Thr Asn Tyr Gly Ile

1

5

<210> 182

<211> 10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 182

Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr Gly Met Ala

1

5

10

<210> 183

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 183

Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr Ala Met

1

5

<210> 184

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 184

Gly Tyr Thr Phe Thr Ala Tyr Gly Met

181

1 5

<210> 185
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 185
Gly Tyr Thr Phe Ala Asn Tyr Gly Met
1 5

<210> 186
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 186
Gly Tyr Thr Ala Thr Asn Tyr Gly Met
1 5

<210> 187
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 187
Gly Tyr Ala Phe Thr Asn Tyr Gly Met
1 5

<210> 188
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 188
Gly Ala Thr Phe Thr Asn Tyr Gly Met
1 5

<210> 189
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>

182

<221> fuente

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

<400> 189

Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Ala Gly Met

1

5

<210> 190

<211> 17

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 190

Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Asp Glu Phe Thr

1

5

10

15

Arg

<210> 191

<211> 17

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 191

Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Val Asp Glu Phe Lys

1

5

10

15

Arg

<210> 192

<211> 17

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 192

Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Glu Glu Phe Lys

1

5

10

15

Arg

<210> 193

<211> 17

<212> PRT

183

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 193

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

Arg

<210> 194

<211> 17

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 194

Trp	Ile	Asn	Thr	Tyr	Thr	Gly	Glu	Pro	Thr	Tyr	Ala	Gln	Glu	Phe	Lys
1				5					10					15	

Arg

<210> 195

<211> 17

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 195

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

Arg

<210> 196

<211> 17

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 196

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

184

Arg

<210> 197
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 197
 Trp Ile Asn Thr Tyr Asn Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Pro Asp Phe Lys
 1 5 10 15

Arg

<210> 198
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 198
 Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Ser Thr Tyr Ala Gln Asp Phe Lys
 1 5 10 15

Arg

<210> 199
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 199
 Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Asn Asn Pro Thr Tyr Ala Gln Asp Phe Lys
 1 5 10 15

Arg

<210> 200
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 200

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

Glu

<210> 201

<211> 17

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 201

Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Glu Glu Phe Thr
1 5 10 15

Arg

<210> 202

<211> 17

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 202

Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala His Glu Phe Thr
1 5 10 15

Arg

<210> 203

<211> 17

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 203

Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Pro Asp Phe Thr
1 5 10 15

Arg

<210> 204

1786

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

 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 204
 Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala His Glu Phe Lys
 1 5 10 15

Arg

<210> 205
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 205
 Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Pro Glu Phe Lys
 1 5 10 15

Arg

<210> 206
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 206
 Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Gln Glu Phe Lys
 1 5 10 15

Arg

<210> 207
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 207
 Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Thr Thr Tyr Ala His Asp Phe Lys
 1 5 10 15

187

Arg

<210> 208
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 208
 Trp Ile Asn Thr Tyr Asn Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Pro Asp Phe Lys
 1 5 10 15

Arg

<210> 209
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 209
 Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Pro Asp Phe Lys
 1 5 10 15

Arg

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

 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 210
 Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Ser Thr Tyr Ala Gln Asp Phe Lys
 1 5 10 15

Arg

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

 <220>

178

<221> fuente

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

<400> 211

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

Arg

<210> 212

<211> 17

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<220>

<221> MOD_RES

<222> (5)..(5)

<223> Cualquier amino ácido

<400> 212

Trp Ile Asn Thr Xaa Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe Lys
1 5 10 15

Arg

<210> 213

<211> 19

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 213

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

Lys Asp Arg

<210> 214

<211> 17

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 214

Val Ile Ser Gly Asp Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

179

1 5 10 15

Gly

<210> 215
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 215
 Trp Ile Asn Thr Trp Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe Lys
 1 5 10 15

Arg

<210> 216
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 216
 Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe Lys
 1 5 10 15

Ala

<210> 217
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 217
 Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe Ala
 1 5 10 15

Arg

<210> 218
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

190

<220>

<221> fuente

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

<400> 218

Trp	Ile	Asn	Thr	Tyr	Thr	Gly	Glu	Pro	Thr	Tyr	Ala	Ala	Asp	Ala	Lys
1				5					10					15	

Arg

<210> 219

<211> 17

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 219

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

Arg

<210> 220

<211> 17

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 220

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

Arg

<210> 221

<211> 17

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 221

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

Arg

<210> 222
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 222
 Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Ala Tyr Ala Ala Asp Phe Lys
 1 5 10 15

Arg

<210> 223
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 223
 Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Ala Thr Tyr Ala Ala Asp Phe Lys
 1 5 10 15

Arg

<210> 224
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 224
 Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Ala Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe Lys
 1 5 10 15

Arg

<210> 225
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

192

<400> 225

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

Arg

<210> 226

<211> 17

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 226

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

Arg

<210> 227

<211> 17

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 227

Trp	Ile	Asn	Thr	Tyr	Thr	Ala	Glu	Pro	Thr	Tyr	Ala	Ala	Asp	Phe	Lys
1				5					10					15	

Arg

<210> 228

<211> 17

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 228

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

Arg

<210> 229

<211> 17

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 229

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

Arg

<210> 230

<211> 17

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 230

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

Arg

<210> 231

<211> 17

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 231

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

Arg

<210> 232

<211> 17

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 232

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

194

Arg

<210> 233
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 233
 Trp Ile Ala Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe Lys
 1 5 10 15

Arg

<210> 234
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 234
 Trp Ala Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe Lys
 1 5 10 15

Arg

<210> 235
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 235
 Ala Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe Lys
 1 5 10 15

Arg

<210> 236
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

195

<400> 236

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

Arg

<210> 237

<211> 14

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 237

Tyr Pro Lys Tyr Tyr Gly Lys Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
 1 5 10

<210> 238

<211> 14

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 238

Tyr Pro Tyr Tyr Tyr Gly Arg Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
 1 5 10

<210> 239

<211> 17

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 239

Tyr Pro His Tyr Tyr Val Asn Glu Arg Lys Ser His Trp Tyr Phe Asp
 1 5 10 15

Val

<210> 240

<211> 14

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

196

<400> 240

Tyr Pro Tyr Tyr Tyr Gly Thr Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
 1 5 10

<210> 241

<211> 14

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 241

Tyr Pro His Tyr Tyr Gly Thr Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
 1 5 10

<210> 242

<211> 14

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 242

Tyr Pro His Tyr Tyr Gly Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp Leu
 1 5 10

<210> 243

<211> 14

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 243

Tyr Pro His Tyr Tyr Gly Arg Ser Gln Trp Tyr Phe Asp Val
 1 5 10

<210> 244

<211> 14

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 244

Tyr Pro His Tyr Tyr Gly Gly Cys His Trp Tyr Phe Asp Val
 1 5 10

<210> 245

<211> 14

<212> PRT

197

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 245

Tyr Pro His Tyr Tyr Gly Thr Thr His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 246

<211> 14

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 246

Asp Pro His Tyr Tyr Gly Ser Tyr His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 247

<211> 14

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 247

Tyr Pro His Tyr Tyr Gly Ser Tyr His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 248

<211> 14

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 248

Arg Pro His Tyr Tyr Gly Ala Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 249

<211> 14

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 249

Tyr Pro His Tyr Tyr Gly Ala Ser His Trp Tyr Phe Asp Val

198

1 5 10

<210> 250
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 250
 Tyr Pro His Tyr Tyr Ser Gly Glu Arg Glu Ser Ser His Trp Tyr Phe
 1 5 10 15

Asp Val

<210> 251
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 251
 Tyr Pro His Tyr Tyr Ala Arg Glu Gly Gly Ser His Trp Tyr Phe Asp
 1 5 10 15

Val

<210> 252
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 252
 Tyr Pro His Tyr Tyr Ser Val Glu Gly Gly Ser His Trp Tyr Phe Asp
 1 5 10 15

Val

<210> 253
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

199

<400> 253

Tyr Pro His Tyr Tyr Gly Gly Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
 1 5 10

<210> 254

<211> 17

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 254

Tyr Pro His Tyr Tyr Gln Ser Glu Gly Arg Ser His Trp Tyr Phe Asp
 1 5 10 15

Val

<210> 255

<211> 18

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 255

Tyr Pro His Tyr Tyr His Thr Arg Gly Gly Ser Ser His Trp Tyr Phe
 1 5 10 15

Asp Val

<210> 256

<211> 17

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 256

Tyr Pro His Tyr Tyr Leu Thr Asp His Lys Ser His Trp Tyr Phe Asp
 1 5 10 15

Val

<210> 257

<211> 17

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

200

<221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 257

Tyr	Pro	His	Tyr	Tyr	Arg	Gly	Asp	Arg	Lys	Ser	His	Trp	Tyr	Phe	Asp
1				5					10					15	

Val

<210> 258

<211> 17

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 258

Tyr	Pro	His	Tyr	Tyr	Glu	Lys	Gln	Arg	Lys	Ser	His	Trp	Tyr	Phe	Asp
1				5					10					15	

Val

<210> 259

<211> 17

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 259

Tyr	Pro	His	Tyr	Tyr	Ser	Asp	Glu	Lys	Lys	Ser	His	Trp	Tyr	Phe	Asp
1				5					10					15	

Val

<210> 260

<211> 18

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 260

Tyr	Pro	His	Tyr	Tyr	Leu	Lys	Asp	Gly	Lys	Lys	Ser	His	Trp	Tyr	Phe
1				5					10					15	

Asp Val

207

<210> 261
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 261
Tyr Pro His Tyr Tyr Lys Glu Asp Lys Lys Ser His Trp Tyr Phe Asp
1 5 10 15

Val

<210> 262
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 262
Tyr Pro His Tyr Tyr Leu Arg Asp Lys Lys Ser His Trp Tyr Phe Asp
1 5 10 15

Val

<210> 263
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 263
Tyr Pro His Tyr Tyr Leu Ser Asp Lys Lys Ser His Trp Tyr Phe Asp
1 5 10 15

Val

<210> 264
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 264

202

Tyr Pro His Tyr Tyr Arg Arg Asp Lys Lys Ser His Trp Tyr Phe Asp
 1 5 10 15

Val

<210> 265
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 265
 Tyr Pro His Tyr Tyr Ser His Gln Lys Arg Ser His Trp Tyr Phe Asp
 1 5 10 15

Val

<210> 266
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 266
 Tyr Pro His Tyr Tyr Thr Tyr Asp Lys Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp
 1 5 10 15

Val

<210> 267
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 267
 Tyr Pro His Tyr Tyr Arg Gly Gln Arg Lys Ser Ser His Trp Tyr Phe
 1 5 10 15

Asp Val

<210> 268
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

203

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 268
 Tyr Pro His Tyr Tyr Glu Lys Glu Arg Lys Ser Ser His Trp Tyr Phe
 1 5 10 15

Asp Val

<210> 269
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 269
 Tyr Pro His Tyr Tyr Gln Asp Glu Lys Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp
 1 5 10 15

Val

<210> 270
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 270
 Tyr Pro His Tyr Tyr Glu Arg Asp Gly Lys Ser Ser His Trp Tyr Phe
 1 5 10 15

Asp Val

<210> 271
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 271
 Tyr Pro His Tyr Tyr Arg Asn Glu Lys Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp
 1 5 10 15

Val

204

<210> 272
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 272
 Tyr Pro His Tyr Tyr Gln Arg Asn Gly Lys Ser Ser His Trp Tyr Phe
 1 5 10 15

Asp Val

<210> 273
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 273
 Tyr Pro His Tyr Tyr Arg Thr Glu Lys Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp
 1 5 10 15

Val

<210> 274
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 274
 Tyr Pro His Tyr Tyr Val Asn Asp Lys Thr Ser His Trp Tyr Phe Asp
 1 5 10 15

Val

<210> 275
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

205

<400> 275

Tyr	Pro	His	Tyr	Tyr	Leu	Lys	Asp	Gly	Met	Ser	Ser	His	Trp	Tyr	Phe
1				5					10					15	

Asp Val

<210> 276

<211> 14

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 276

Tyr	Pro	His	Tyr	Tyr	Gly	Asn	Ser	His	Trp	Tyr	Phe	Asp	Val
1				5					10				

<210> 277

<211> 17

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 277

Tyr	Pro	His	Tyr	Tyr	Pro	Ser	Pro	Arg	Gly	Ser	His	Trp	Tyr	Phe	Asp
1				5					10					15	

Val

<210> 278

<211> 18

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 278

Tyr	Pro	His	Tyr	Tyr	Gln	Asn	Glu	Gly	Pro	Ser	Ser	His	Trp	Tyr	Phe
1				5					10					15	

Asp Val

<210> 279

<211> 14

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

206

<221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 279
 Tyr Pro Tyr Tyr Tyr Gly Arg Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
 1 5 10

<210> 280
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 280
 Tyr Pro His Tyr Tyr Gly Arg Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
 1 5 10

<210> 281
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 281
 Tyr Pro His Tyr Tyr Arg Asp Glu Arg Glu Ser His Trp Tyr Phe Asp
 1 5 10 15

Val

<210> 282
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 282
 Tyr Pro His Tyr Tyr Ser His Glu Arg Lys Ser His Trp Tyr Phe Asp
 1 5 10 15

Val

<210> 283
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente

207

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

<400> 283
Tyr Pro His Tyr Tyr Leu Lys Asp Arg Lys Ser His Trp Tyr Phe Asp
1 5 10 15

Val

<210> 284
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 284
Tyr Pro His Tyr Tyr Leu Asn Glu Arg Lys Ser His Trp Tyr Phe Asp
1 5 10 15

Val

<210> 285
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 285
Tyr Pro His Tyr Tyr Ser Asn Glu Arg Lys Ser His Trp Tyr Phe Asp
1 5 10 15

Val

<210> 286
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 286
Tyr Pro His Tyr Tyr Val Asn Glu Arg Lys Ser His Trp Tyr Phe Asp
1 5 10 15

Val

<210> 287
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 287
 Tyr Pro His Tyr Tyr Val Thr Asp Arg Lys Ser His Trp Tyr Phe Asp
 1 5 10 15

Val

<210> 288
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 288
 Tyr Pro His Tyr Tyr Gly Asn His Arg Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp
 1 5 10 15

Val

<210> 289
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 289
 Tyr Pro His Tyr Tyr Leu Lys Asp Gly Arg Ser Ser His Trp Tyr Phe
 1 5 10 15

Asp Val

<210> 290
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 290
 Tyr Pro His Tyr Tyr Leu Lys Asp Arg Arg Ser Ser His Trp Tyr Phe

209

1 5 10 15

Asp Val

<210> 291
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 291
 Tyr Pro His Tyr Tyr Gln Arg Asp Arg Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp
 1 5 10 15

Val

<210> 292
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 292
 Tyr Pro His Tyr Tyr Arg Asp Glu Arg Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp
 1 5 10 15

Val

<210> 293
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 293
 Tyr Pro His Tyr Tyr Glu Arg Asp Gly Arg Ser Ser His Trp Tyr Phe
 1 5 10 15

Asp Val

<210> 294
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 294
 Tyr Pro His Tyr Tyr Leu Arg Asp Gly Arg Ser Ser His Trp Tyr Phe
 1 5 10 15

Asp Val

<210> 295
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 295
 Tyr Pro His Tyr Tyr Arg Asn Glu Arg Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp
 1 5 10 15

Val

<210> 296
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 296
 Tyr Pro His Tyr Tyr Ser His Glu Arg Val Ser His Trp Tyr Phe Asp
 1 5 10 15

Val

<210> 297
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 297
 Tyr Pro His Tyr Tyr Gln Lys Gln Ser Lys Ser Ser His Trp Tyr Phe
 1 5 10 15

Asp Val

<210> 298
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 298
 Tyr Pro Tyr Tyr Tyr Gly Thr Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
 1 5 10

<210> 299
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 299
 Tyr Pro His Tyr Tyr Gly Thr Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
 1 5 10

<210> 300
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 300
 Tyr Pro His Tyr Tyr Val Glu Glu Thr Glu Ser His Trp Tyr Phe Asp
 1 5 10 15

Val

<210> 301
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 301
 Tyr Pro His Tyr Tyr Val Gly Glu Thr Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp
 1 5 10 15

Val

212

<210> 302
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (3)..(3)
 <223> Cualquier amino ácido

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (7)..(7)
 <223> Cualquier amino ácido

<400> 302
 Tyr Pro Xaa Tyr Tyr Gly Xaa Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
 1 5 10

<210> 303
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 303
 Tyr Pro His Tyr Tyr Leu Ala Asp Arg Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp
 1 5 10 15

Val

<210> 304
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 304
 Tyr Pro His Tyr Tyr Val Gly Glu Gln Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp
 1 5 10 15

Val

<210> 305
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

213

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 305

Tyr	Pro	His	Tyr	Tyr	Val	Gly	Glu	Thr	Ser	Ser	His	Trp	Tyr	Phe	Asp
1				5					10					15	

Val

<210> 306
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 306

Tyr	Pro	His	Tyr	Tyr	Leu	Lys	Asp	Lys	Ser	Ser	His	Trp	Tyr	Phe	Asp
1				5					10					15	

Val

<210> 307
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 307

Tyr	Pro	His	Tyr	Tyr	Leu	Lys	Asp	Arg	Ser	Ser	His	Trp	Tyr	Phe	Asp
1				5					10					15	

Val

<210> 308
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 308

Tyr	Pro	His	Tyr	Tyr	Ala	Lys	Glu	Arg	Ser	Ser	His	Trp	Tyr	Phe	Asp
1				5					10					15	

Val

214

<210> 309
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 309
 Tyr Pro His Tyr Tyr Leu Gly Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
 1 5 10 15

<210> 310
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 310
 Tyr Pro His Tyr Tyr Lys Asn Asp Lys Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp
 1 5 10 15

Val

<210> 311
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 311
 Tyr Pro His Tyr Tyr Leu Asn Asp Lys Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp
 1 5 10 15

Val

<210> 312
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 312
 Tyr Pro His Tyr Tyr Val Asn Glu Arg Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp
 1 5 10 15

213

Val

<210> 313
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 313
 Tyr Pro His Tyr Tyr Ala Arg Asp Arg Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp
 1 5 10 15

Val

<210> 314
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 314
 Tyr Pro His Tyr Tyr Tyr Arg Asp Arg Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp
 1 5 10 15

Val

<210> 315
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 315
 Tyr Pro Tyr Tyr Asn Gly Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
 1 5 10

<210> 316
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 316

216

. Pro Pro Tyr Tyr Tyr Gly Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 317
<211> 14
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 317
Tyr Pro Tyr Tyr Tyr Gly Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 318
<211> 13
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 318
Tyr His Tyr Tyr Tyr Gly Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 319
<211> 14
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 319
Tyr Tyr His Tyr Tyr Tyr Gly Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 320
<211> 14
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 320
Thr Pro His Tyr Tyr Tyr Gly Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 321
<211> 14
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 321
 Tyr Pro Tyr Tyr Tyr Gly Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
 1 5 10

<210> 322
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 322
 Tyr Pro His Tyr Tyr Gly Arg Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
 1 5 10

<210> 323
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 323
 Tyr Pro His Tyr Tyr Gly Arg Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
 1 5 10

<210> 324
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 324
 Tyr Pro His Tyr Tyr Val Asn Glu Arg Lys Ser His Trp Tyr Phe Asp
 1 5 10 15

Val

<210> 325
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 325

Tyr Pro Tyr Tyr Tyr Gly Thr Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 326

<211> 14

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 326

Tyr Pro Tyr Tyr Tyr Gly Thr Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 327

<211> 14

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 327

Tyr Pro His Tyr Tyr Gly Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp Ala
1 5 10

<210> 328

<211> 14

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 328

Tyr Pro His Tyr Tyr Gly Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 329

<211> 14

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 329

Tyr Pro His Tyr Tyr Gly Ser Ser His Trp Tyr Phe Ala Val
1 5 10

<210> 330

<211> 14

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 330
 Tyr Pro His Tyr Tyr Gly Ser Ser His Trp Tyr Ala Asp Val
 1 5 10

<210> 331
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 331
 Tyr Pro His Tyr Tyr Gly Ser Ser His Trp Ala Phe Asp Val
 1 5 10

<210> 332
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 332
 Tyr Pro His Tyr Tyr Gly Ser Ser His Ala Tyr Phe Asp Val
 1 5 10

<210> 333
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 333
 Tyr Pro His Tyr Tyr Gly Ser Ser Ala Trp Tyr Phe Asp Val
 1 5 10

<210> 334
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 334
 Tyr Pro His Tyr Tyr Gly Ser Ala His Trp Tyr Phe Asp Val
 1 5 10

220

<210> 335
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 335
 Tyr Pro Tyr Tyr Arg Gln Lys Gly His Trp Tyr Phe Asp Val
 1 5 10

<210> 336
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 336
 Tyr Pro Tyr Tyr Arg Gln Arg Gly His Trp Tyr Phe Asp Val
 1 5 10

<210> 337
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 337
 Tyr Pro Tyr Tyr Arg Asp Ala Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
 1 5 10

<210> 338
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 338
 Tyr Pro Tyr Tyr Arg Asn Ala Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
 1 5 10

<210> 339
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente

221

, <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 339

Tyr Pro Tyr Tyr Tyr Gly Ala Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 340

<211> 14

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 340

Tyr Pro His Tyr Tyr Gly Ala Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 341

<211> 14

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 341

Tyr Pro Tyr Tyr Arg Gly Glu Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 342

<211> 14

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 342

Tyr Pro Tyr Tyr Arg Lys Gly Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 343

<211> 14

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 343

Tyr Pro Tyr Tyr Arg Ser Gly Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 344

226

<211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 344
 Tyr Pro Tyr Tyr Lys Gly Gly Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
 1 5 10

<210> 345
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 345
 Tyr Pro Tyr Tyr Ile Ala Lys Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
 1 5 10

<210> 346
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 346
 Tyr Pro Tyr Tyr Ile Asn Lys Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
 1 5 10

<210> 347
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 347
 Tyr Pro Tyr Tyr Arg Asp Asn Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
 1 5 10

<210> 348
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

223

<400>.348

Tyr	Pro	Tyr	Tyr	Arg	Gln	Asn	Ser	His	Trp	Tyr	Phe	Asp	Val
1				5					10				

<210> 349

<211> 14

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 349

Tyr	Pro	Tyr	Tyr	Tyr	Asn	Gln	Ser	His	Trp	Tyr	Phe	Asp	Val
1				5					10				

<210> 350

<211> 14

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 350

Tyr	Pro	Tyr	Tyr	Ile	Glu	Arg	Ser	His	Trp	Tyr	Phe	Asp	Val
1				5					10				

<210> 351

<211> 14

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 351

Tyr	Pro	Tyr	Tyr	Thr	Asn	Arg	Ser	His	Trp	Tyr	Phe	Asp	Val
1				5					10				

<210> 352

<211> 14

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 352

Tyr	Pro	Tyr	Tyr	Thr	Thr	Arg	Ser	His	Trp	Tyr	Phe	Asp	Val
1				5					10				

<210> 353

<211> 14

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

224

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 353
 Tyr Pro Tyr Tyr Thr Gly Arg Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
 1 5 10

<210> 354
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 354
 Tyr Pro Tyr Tyr Lys Asn Thr Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
 1 5 10

<210> 355
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 355
 Tyr Pro Tyr Tyr Arg Asn Thr Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
 1 5 10

<210> 356
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 356
 Tyr Pro Tyr Tyr Thr Asn Thr Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
 1 5 10

<210> 357
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 357
 Tyr Pro Tyr Tyr Arg Gly Thr Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
 1 5 10

<210> 358
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 358
 Tyr Pro Tyr Tyr Trp Gly Thr Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
 1 5 10

<210> 359
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 359
 Tyr Pro Tyr Tyr Tyr Gly Thr Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
 1 5 10

<210> 360
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 360
 Tyr Pro His Tyr Tyr Ala Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
 1 5 10

<210> 361
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 361
 Tyr Pro Tyr Tyr Lys Glu Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
 1 5 10

<210> 362
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente

728

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

<400> 362

Tyr Pro Tyr Tyr Arg Asn Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 363

<211> 14

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 363

Tyr Pro Tyr Tyr Arg Gln Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 364

<211> 14

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 364

Tyr Pro His Tyr Ala Gly Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 365

<211> 14

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 365

Tyr Pro Tyr Tyr Glu Gly Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 366

<211> 14

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 366

Tyr Pro Tyr Tyr Thr Gly Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 367

227

<211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 367
 Tyr Pro His Ala Tyr Gly Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
 1 5 10

<210> 368
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 368
 Tyr Pro Ala Tyr Tyr Gly Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
 1 5 10

<210> 369
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 369
 Tyr Pro Tyr Tyr Tyr Gly Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
 1 5 10

<210> 370
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 370
 Ala Ala His Tyr Tyr Gly Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
 1 5 10

<210> 371
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

228

<400> 371

Ala	Pro	His	Tyr	Tyr	Gly	Ser	Ser	His	Trp	Tyr	Phe	Asp	Val
1				5					10				

<210> 372

<211> 11

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 372

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

<210> 373

<211> 11

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 373

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

<210> 374

<211> 11

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 374

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

<210> 375

<211> 11

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 375

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

<210> 376

<211> 11

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

229

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 376
 Ser Ala Ser Gln Ala Ile Ser Asn Tyr Leu Asn
 1 5 10

<210> 377
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 377
 Ser Ala Ser Gln Asp Ala Ser Asn Tyr Leu Asn
 1 5 10

<210> 378
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 378
 Ser Ala Ser Gln Asp Ile Ala Asn Tyr Leu Asn
 1 5 10

<210> 379
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 379
 Ser Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ala Tyr Leu Asn
 1 5 10

<210> 380
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 380
 Ser Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Ala Leu Asn
 1 5 10

730

<210> 381
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 381
 Ser Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Ala Asn
 1 5 10

<210> 382
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 382
 Ser Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Ala
 1 5 10

<210> 383
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 383
 Arg Ala Asn Glu Gln Leu Ser Asn Tyr Leu Asn
 1 5 10

<210> 384
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 384
 Arg Ala Asn Glu Gln Ile Ser Asn Tyr Leu Asn
 1 5 10

<210> 385
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente

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

<400> 385

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

<210> 386

<211> 7

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 386

Ala Thr Ser Ser Leu His Ser
1 5

<210> 387

<211> 7

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 387

Phe Ala Ser Ser Leu His Ser
1 5

<210> 388

<211> 7

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 388

Phe Thr Ala Ser Leu His Ser
1 5

<210> 389

<211> 7

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 389

Phe Thr Ser Ala Leu His Ser
1 5

<210> 390

232

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

 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 390
 Phe Thr Ser Ser Ala His Ser
 1 5

<210> 391
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 391
 Phe Thr Ser Ser Leu Ala Ser
 1 5

<210> 392
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 392
 Phe Thr Ser Ser Leu His Ala
 1 5

<210> 393
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 393
 Ala Ala Ser Ser Leu Glu Ser
 1 5

<210> 394
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

23

<400> 394

Gln Gln Tyr Ser Thr Val Phe Trp Thr
1 5

<210> 395

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 395

Gln Gln Tyr Asn Ser Thr Pro Trp Thr
1 5

<210> 396

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 396

Gln Gln Tyr Tyr Ser Thr Pro Trp Thr
1 5

<210> 397

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 397

Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Trp Thr
1 5

<210> 398

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 398

Gln Gln Tyr Ser Ala Val Pro Trp Thr
1 5

<210> 399

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

234

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 399
 Gln Gln Tyr Ser Asn Val Pro Trp Thr
 1 5

<210> 400
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 400
 Gln Gln Tyr Ser Ser Val Pro Trp Thr
 1 5

<210> 401
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 401
 Ala Gln Tyr Ser Thr Val Pro Trp Thr
 1 5

<210> 402
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 402
 Gln Ala Tyr Ser Thr Val Pro Trp Thr
 1 5

<210> 403
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 403
 Gln Gln Ala Ser Thr Val Pro Trp Thr
 1 5

<210> 404
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 404
Gln Gln Tyr Ala Thr Val Pro Trp Thr
1 5

<210> 405
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 405
Gln Gln Tyr Ser Ala Val Pro Trp Thr
1 5

<210> 406
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 406
Gln Gln Tyr Ser Thr Ala Pro Trp Thr
1 5

<210> 407
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 407
Gln Gln Tyr Ser Thr Val Ala Trp Thr
1 5

<210> 408
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente

136

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

<400> 408

Gln Gln Tyr Ser Thr Val Pro Ala Thr
1 5

<210> 409

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 409

Gln Gln Tyr Ser Thr Val Pro Trp Ala
1 5

<210> 410

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 410

Gln Gln Tyr Asn Ser Leu Pro Trp Thr
1 5

<210> 411

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 411

Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr Gly Met
1 5

<210> 412

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

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

<400> 412

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

237

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO NIT : 800.176.089-2 - / -					
 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA	RECIBO DE CAJA			No. 11 - 125974	
				Bogotá D.C., Diciembre 27 de 2011 - 10:50:50	
RECIBIDO DE : CASTILLO GRAU ASOCIADOS				NI 8.000.987.041	
*** Soporte del Pago ***					
TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR. PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	410220156	26/12/2011	10.835.000.00
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	410220204	26/12/2011	6.948.000.00
*** Conceptos Pagados ***					
CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr.UNDITARIO	Vr.CONCEPTO	
1 50005-01-09	OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD INDUSTRIAL	99 OTROS SERVICIOS ADMINISTRATIVOS	571.000.00	571.000.00	
				\$571.000.00	
=====					
SON: **QUINIENTOS SETENTA Y UN MIL PESOS MONEDA CORRIENTE**					
Responsable: _____					
Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____					
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO					
					
No. 11-179622- -00000-0000					
Fecha: 2011-12-28 08:45:13 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR					
Tra. 11 PATENTEIYII Eje: 378 FASENACIONALI					
Act. 411 PRESENTACION Folios: 238					
Sede Centro: Carrera 13 No. 27 - 00 Pisos 3,4,5 y 10 Bogotá, D.C.- Colombia					
Web: www.sic.gov.co e-mail: info@sic.gov.co Conmutador: (571) 5870000 Fax: (571) 5870284 Línea: 018000-910165 Call Center: (571) 6513240					
Diciembre 27 de 2011 - 10:50:55					

238

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 11-179622-00000-0000

Fecha: 2011-12-28 08:45:13	Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII	Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION	Folios: 238



No. 11-179622-00000-0000

Fecha: 2011-12-28 08:45:13 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 238

PATENTE DE INVENCION ☐

MODEI

- ☐ Indicación que se solicita una patente.
- ☐ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
- ☐ Descripción de la invención
- ☐ Dibujos de ser estos pertinentes
- ☐ Comprobante de pago de las tasas establecidas (De ser el caso formato de descuento)
- Completa ☐ Incompleta ☐

PATENTE DE INVENCION PCT ☒

MODELO DE UTILIDAD PCT ☐

Art.33 Decisión 486/00, Circular Única

- ☒ Indicación que se solicita una PCT
- ☒ Copia de la solicitud en español, tal como fue presentada inicialmente (capítulo descriptivo, reivindicatorio, resumen)
- ☒ Dibujos de ser estos pertinentes
- ☒ Comprobante de pago de las tasas establecidas (de ser el caso formato de descuento)
- Completa ☒ Incompleta ☐

DISEÑO INDUSTRIAL ☐

(Art. 119 Decisión 486/00)

- ☐ Indicación que se solicita Diseño industrial
- ☐ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
- ☐ Representación gráfica y fotográfica del Diseño industrial o muestra del material que incorpora el diseño
- ☐ Comprobante de pago de las tasas establecidas
- Completa ☐ Incompleta ☐

ESQUEMA DE TRAZADO ☐

(Art. 92 Decisión 486/00)

- ☐ Indicación que se solicita un esquema de trazado
- ☐ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
- ☐ Representación gráfica de un esquema de trazado
- ☐ Comprobante de pago de las tasas establecidas
- Completa ☐ Incompleta ☐