



Industria y Comercio

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

PCT

Delegatura de propiedad Industrial

División de Nuevas Creaciones

SOLICITUD PATENTE DE INVENCION

21. EXPEDIENTE No.

05-7277

54. TÍTULO CUERPOS MIMÉTICOS DE CPO MIMÉTICA

MAFÍFEZA CHI - SUPRIMIDA, CONDICIONES

MÉTODOS Y USOS,

51. CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL Δ61 K 38/00 Δ61 K 38/17

71. SOLICITANTE CENTROZ, INC.

DOMICILIO MALVERN, PENNSYLVANIA, ESTADOS UNIDOS DE
AMERICA.

74. APODERADO JIMENA ESCOBAR URIBE

22. BOGOTÁ, D. C., 28 DE AGOSTO DE 2005

FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD DE PATENTE
PCT

ENTRADA EN FASE NACIONAL

28-01-2005

SOLICITUD DE:

1



Patente de Invención



Patente de Modelo de Utilidad



Capítulo I



Capítulo II

2

SOLICITANTE
(71)

Nombre: Centocor, Inc.

Dirección: 200 Great Valley Parkway,
Pennsylvania 19355,

Nacionalidad o Domicilio: Malvern,
Pennsylvania, Estados Unidos

Lugar de Constitución: Pennsylvania,
Estados Unidos de América

Teléfono:

Fax:

E-mail

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☐

NIT ☐

C.E. ☐

Otro ☐

Número

3

REPRESENTANTE
O APODERADO
(74)

Nombre: JIMENA ESCOBAR URIBE

Dirección: Cra. 11A No. 94-76 (Of. 305)

Teléfono: 6 162051/61 Fax: 6 161889

E-mail: tm-patent@escobaruribe.com

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☒

NIT ☐

C.E. ☐

Otro ☐

Número 39.779.452T.P 68228

4

INVENTOR (ES)
(72)

Nombre: VER ANEXOS

Dirección:

Nacionalidad o domicilio:

folio 3

5

PCT (86)

Solicitud Internacional No. PCT/US2003/020495

Fecha 30 de junio de 2003

Publicación Internacional No. WO 2004/002424 A2

Fecha 8 de enero de 2004

6 TÍTULO (54)

CUERPOS MIMÉTICOS DE EPO MIMÉTICA MAMÍFERA CH1 SUPRIMIDA;
COMPOSICIONES, MÉTODOS Y USOS.

7

Clasificación Internacional (51)

A61K 38/00

A61K 38/17

8 Prioridad

SI ☒ NO ☐

(33) País de Origen

Estados Unidos de América

Estados Unidos de América

(32) Fecha

28 de junio de 2002

19 de septiembre de 2002

(31) Número de Solicitud

60/392.431

60/412.144

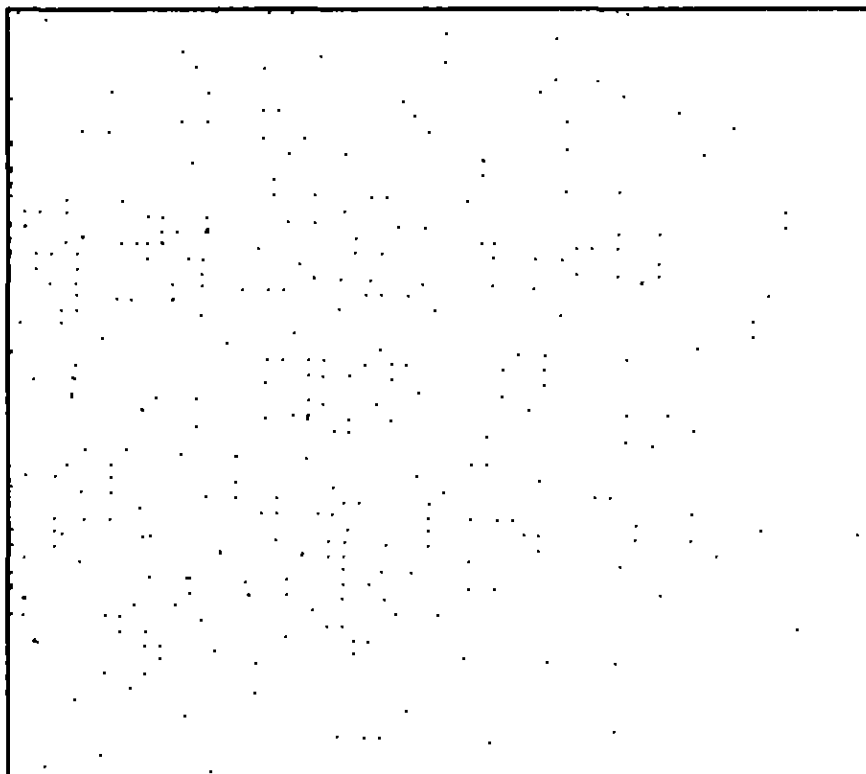
9

Comprobante de pag No. 05 - 5.409

Fecha 25 de enero de 2005

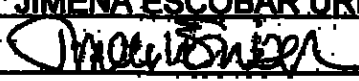
- ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud
- ☒ Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica
- ☒ Poderes si fuere el caso
- ☒ Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante
- ☐ Declaraciones
- ☒ Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☒ 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 del examen preliminar internacional efectuado por la IPEA
- ☐ De ser el caso copia de 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 12 X 12 .
- ☐ 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



12 Solicito la concesión de la patente

NOMBRE: JIMENA ESCOBAR URIBE

FIRMA: 

C.C. 39.779.452 DE Usaquén T.P. 68.228

As. 2767/PCT

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800174089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 05 - 5,409
FECHA : ENERO 25 DE 2005

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO
Radiazion : US007277 00000000 Folios: 239
Fecha (AMD): 2005-01-28 15:32:04
Tramite : 811 PCT-PATENT 379 FASE NNCI 411 PRESENTIN
Recepcion: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

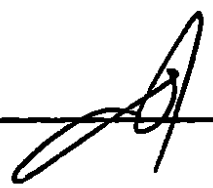
CONSIGNACION

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
ESCOBAR URIBE ASOCIADOS	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00110-6	29814622	25/01/2005	3,973,000.00

C O N C E P T O

CANT. HISTORICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1 50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	443,000.
	TOTAL :	443,000.00

SOM: CUATROCIENTOS CUARENTA Y TRES MIL PESOS

RESPONSABLE : 

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

ANEXOS

INVENTORES

1.) **HEAVNER, George, A.**
(6 Oak Glen Drive, Malvern, Pennsylvania 19355, Estados Unidos de América);
2.) **KNIGHT, David, M.**
(2430 Whitehorse Road, Berwyn, Pennsylvania 19312, Estados Unidos de América);
3.) **GHRAYEB, John**
(6 Summerhill Drive, Downingtown, Pennsylvania 19335, Estados Unidos de América);
4.) **SCALLON, Bernard, J.**
(139 Hemlock Drive, Collegeville, Pennsylvania 19426, Estados Unidos de América);
5.) **NESSPOR, Thomas, C.**
(22 King Way, Limerick, Pennsylvania 19468, Estados Unidos de América);
6.) **KUTOLOSKI, Karen, A.**
(1220 Hunter Lane, Perkiomenville, Pennsylvania 18074, Estados Unidos de América).

4

Solicito expresamente a nombre de la sociedad **CENTOCOR, INC**, sociedad constituida de conformidad con las leyes del Estado de Pennsylvania, Estados Unidos de América, domiciliada en 200 Great Valley Parkway, Pennsylvania 19355, Estados Unidos de América, el otorgamiento de Patente para la invención titulada **"CUERPOS MIMÉTICOS DE EPO MIMÉTICA MAMÍFERA CH1 SUPRIMIDA, COMPOSICIONES, MÉTODOS Y USOS "**.

Clase: A61K


JIMENA ESCOBAR URIBE
C.C. 39.779.452 de Usaquen.
T.P. 68.228

 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA		SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO DIVISION DE NUEVAS CREACIONES EXTRACTO PARA PUBLICACIÓN SOLICITUD DE PATENTE DE INVENCION PCT													
(21) N° de solicitud: 22) Fecha de solicitud: <table border="0"> <tr> <td>(30) Prioridad Estadinense</td> <td>(31) No. Prioridad</td> <td>32) Fecha</td> <td>(33) País</td> </tr> <tr> <td>Estadinense</td> <td>60/392,431</td> <td>28/06/02</td> <td>US</td> </tr> <tr> <td></td> <td>60/412,144</td> <td>19/09/02</td> <td>US</td> </tr> </table>		(30) Prioridad Estadinense	(31) No. Prioridad	32) Fecha	(33) País	Estadinense	60/392,431	28/06/02	US		60/412,144	19/09/02	US	(51) Int Cl: A61K (71) Solicitante(s) CENTOCOR, INC. (72) Inventor(es) HEAVNER, George, A. // KNIGHT, David, M. // GHRAYEB, John // SCALLON, Bernard, J. // NESSPOR, Thomas, C. // KUTOLOSKI, Karen, A. (74) Agente: JIMENA ESCOBAR URIBE	
(30) Prioridad Estadinense	(31) No. Prioridad	32) Fecha	(33) País												
Estadinense	60/392,431	28/06/02	US												
	60/412,144	19/09/02	US												
(85) Fecha inicio fase nacional: (86) Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT Fecha de presentación de la solicitud: Fecha 30/06/03 No. de solicitud PCT/US2003/020495		(87) Publicación Internacional Fecha: Fecha (dd/mm/aa) 8/01/04 N° publicación: WO 2004/002424 A2													
(54) Título: CUERPOS MIMÉTICOS DE EPO MIMÉTICA MAMÍFERA CH1 SUPRIMIDA, COMPOSICIONES, MÉTODOS Y USOS.															

Reivindicación(es):

1. Al menos un ácido nucleico de cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida, que comprende al menos un polinucleótido que codifica al menos una secuencia de aminoácido de SEQ ID NOS: 50-51, ó un polinucleótido complementario de él.

6

TRADUCCIÓN OFICIAL NO. 5948 DE SELLOS ESCRITOS EN INGLES EN UN DOCUMENTO ESCRITO EN ESPAÑOL/INGLES, EL CUAL, PARA SU IDENTIFICACIÓN, SE SELLA, AL IGUAL QUE ESTA TRADUCCIÓN, CON EL SELLO DE MARÍA MARGARITA CANCINO M., TRADUCTORA E INTERPRETE OFICIAL EN INGLÉS SEGÚN RESOLUCIÓN NO. 1448 DEL MINISTERIO DE JUSTICIA.

HAY TEXTO DE PODER OTORGADO A DOS COLUMNAS EN TEXTO IDÉNTICO EN INGLÉS Y ESPAÑOL POR PARTE DE CENTOCOR, INC., DOMICILIADA EN 200 GREAT VALLEY PARKWAY, MALVERN, PENNSYLVANIA, 19355, A FAVOR DE JIMENA ESCOBAR-URIBE Y/O IGNACIO ESCOBAR-URIBE

HAY UNA FIRMA ILEGIBLE AL FINAL DEL DOCUMENTO

Correspondiente al señor Guy Kevin Townsend

Subsecretario

Firmado en New Brunswick, N.J. Estados Unidos

El 27 de marzo de 2003.

Hay sello seco de NOTARIO PUBLICO – New Jersey

Firmado: Christina A. Clickner

Notario Público, Estado de New Jersey

Mi comisión expira en marzo 2, 2005

EN PÁGINA ADJUNTA HAY APOSTILLA

APOSTILLA

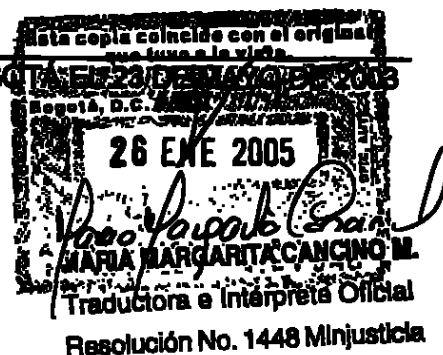
(Convención de la Haya del 5 de octubre de 1961)

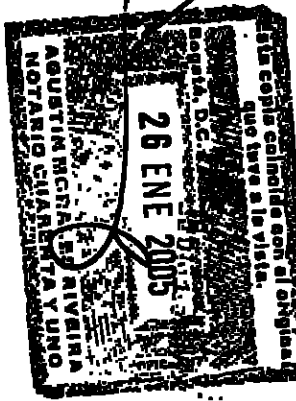
1. País: Estados Unidos de America
Este documento público
2. ha sido firmado por: Christina A. Clickner
3. actuando en su capacidad de: Notario Público de New Jersey
4. lleva el sello de : Christina A. Clickner - Notario

CERTIFICADO

5. en Trenton
6. el 24 de abril de 2003
7. por John E. McCormac, CPA, Tesorero New Jersey
8. No. A179758
9. Sello: Tesorería New Jersey
10. Firma: Ilegible.

ESTA ES UNA TRADUCCIÓN FIEL Y COMPLETA HECHA EN BOGOTÁ EL 24 DE MAYO DE 2003





NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO
2007 MAY 22 A las 10
NOTARIO

1171
Cancun
JAN 27 2005
LAS FOLIO 157
LAS FOLIO 157

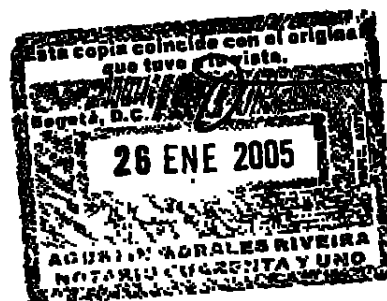
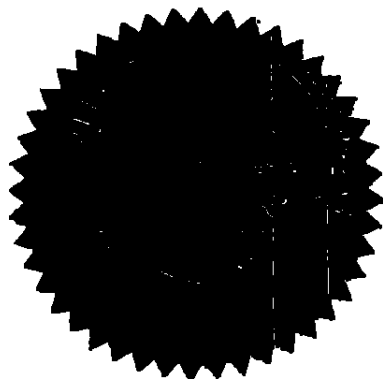
APOSTILLE

(CONVENTION DE LA HAYE DU 5 OCTOBRE 1961)

1. COUNTRY: UNITED STATES OF AMERICA
2. THIS PUBLIC DOCUMENT HAS BEEN SIGNED BY:
CHRISTINA A CLICKNER
3. ACTING IN THE CAPACITY OF:
NOTARY PUBLIC OF NEW JERSEY
4. BEARS THE SEAL/STAMP OF:
CHRISTINA A CLICKNER, NOTARY

CERTIFIED

5. AT TRENTON, NEW JERSEY
6. THE 24TH DAY OF APRIL 2003
7. BY: John E McCormac, CPA, NEW JERSEY TREASURER
8. NO. A170758
9. SEAL/STAMP:
10. SIGNATURE



POWER OF ATTORNEY

The undersigned **GUY KEVIN TOWNSEND**acting on behalf of and representing **CENTOCOR, INC.**

, a company organised and existing under the laws of

PENNSYLVANIA

domiciled at

**200 GREAT VALLEY PARKWAY
MALVERN, PENNSYLVANIA 19355**

hereby appoints

**JIMENA ESCOBAR-URIBE and/or IGNACIO
ESCOBAR-URIBE**

domiciled at Bogota, Colombia

CARRERA 11 A No. 94-76 OF. 305-306

as our true and legal attorneys with the necessary powers: 1. to apply to the administrative, judicial and police authorities of the Republic of Colombia, in any instance or appeal, for obtaining registration of patents, utility models, industrial designs, commercial ensigns and names, trademarks, domain names, copyrights and neighbouring rights, plant varieties, health licenses as well as their assignments, extensions, renewals, changes of name and domicile; 2. to prepare, apply for, obtain, execute and register contracts, licenses, authorizations and registrations of any kind; 3. to intervene as plaintiffs or defendants, in any instance or appeal, before any judge, court, tribunal, corporation, public officer or authority in any judicial, administrative or police action, such as: actions dealing with commercial ensigns and names; oppositions against trademark registrations; caducity and nullity actions; recovery actions, actions arising from obtainment and working of license agreements; actions dealing with unfair competition; criminal actions; actions claiming indemnity for damages, complaints or remarks on all sort of industrial property matters; the performance of precautionary measures, and in any other similar action, measure or appeal related to industrial property matters, copyrights and neighbouring rights and obtentor of plant varieties' rights. To this effect, we hereby authorize them to file applications, make descriptions, amendments, protests, declarations, oppositions, cancellations, appeals and claims; to pay taxes, quotas and liens as provided by law; to waive or abandon granted rights or rights in process of being granted, to receive all kind of documents and securities; to issue the respective releases and, in general to take, before said authorities, pertinent steps to the above-mentioned purposes and take all measures they may deem advisable to protect our interests, with all other necessary legal faculties, and we hereby declare as good and valid whatever the attorneys should do to our benefit.

This power comprises the authority to ratify or confirm on our behalf any action, as well as the faculty of receiving, desisting, transacting, compromising, conciliating, substituting and revoking substitutions, taking notifications and appointing judicial or extra-judicial attorneys.

Signed at **NEW BRUNSWICK, N.J., USA**on **MARCH 27, 2003**


GUY KEVIN TOWNSEND
ASSISTANT SECRETARY

DOCUMENTO DE PODER

El suscrito **GUY KEVIN TOWNSEND**obrando en nombre y representación de **CENTOCOR, INC.**, una compañía organizada y existente bajo las leyes de **PENNSYLVANIA**

con domicilio en

**200 GREAT VALLEY PARKWAY
MALVERN, PENNSYLVANIA 19355**

nombra a

**JIMENA ESCOBAR-URIBE y/o IGNACIO
ESCOBAR-URIBE**

domiciliados en Bogotá, Colombia

CARRERA 11 A No. 94-76 OF. 305-306

apoderados verdaderos y legales con poder especial, amplio y suficiente; 1. para recabar de las oficinas y autoridades colombianas administrativas, judiciales y de policía en cualquier instancia o recurso, la obtención de patentes de invención, modelos de utilidad, diseños industriales, registro de marcas, nombres de dominio, registro de derechos de autor y derechos conexos, registro de variedades vegetales, depósito de nombres comerciales y enseñas, registros sanitarios, así como sus trasposos, prórrogas, renovaciones, cambios de nombre y de domicilio; 2. elaborar, tramitar, solicitar, obtener, realizar, ejecutar y registrar contratos, licencias, autorizaciones y registros de cualesquiera clase; 3. intervenir como demandante o como demandado en cualquier instancia y recurso, y ante cualquier juez, entidad, corporación, funcionario público o autoridad en acciones judiciales, administrativas y de policía, tales como acciones derivadas del nombre o enseña comerciales; observaciones u oposición al registro de marcas; acciones de caducidad y nulidad; acciones reivindicatorias; acciones derivadas de la obtención o explotación de licencias; acciones de competencia desleal; demandas penales y civiles; acciones de indemnización de perjuicios, reclamos u observaciones a cualquier asunto sobre propiedad industrial; el ejercicio de medidas cautelares y cualesquiera otras acciones, medidas o recursos similares relacionados con la propiedad industrial, los derechos de autor y derechos conexos y los derechos de obtentor de variedades vegetales. A este efecto, los facultamos para elevar solicitudes, formular descripciones, enmiendas, protestas, declaraciones, oposiciones, cancelaciones, apelaciones y reclamos; pagar impuestos, cuotas y gravámenes prescritos por la ley; renunciar o desistirse a derechos concedidos o en curso de concesión; recibir toda clase de documentos y valores dando el descargo respectivo, y, en general, para dar ante dichas autoridades todos los pasos necesarios al efecto indicado y tomar todas las medidas que creyeren conducentes al resguardo de nuestros intereses, con todas las demás facultades necesarias y por este documento desde ahora declaramos válido y bueno todo cuanto los apoderados hicieron en nuestro beneficio. Este poder comprende la facultad de ratificar o confirmar en nuestro nombre lo actuado, así como la facultad de desistirse, transigir, comprometer, conciliar, sustituir y revocar sustituciones, recibir notificaciones y nombrar apoderados judiciales o extrajudiciales.

Firmado en **NEW BRUNSWICK, N.J., USA**el **27 de Marzo de 2003** a las **10:00** horas.


CHRISTINA A. GAUDIN
NOTARY PUBLIC, STATE OF NEW JERSEY
MY COMMISSION EXPIRES MAR. 2, 2006

AGUSTIN AGUIRRE RIVERA
NOTARIO PUBLICO DEL ESTADO DE NUEVA YORK

TRADUCCIÓN OFICIAL NO. 5949 de UN DOCUMENTO ESCRITO EN INGLES, EL CUAL, PARA SU IDENTIFICACIÓN, SE SELLA, AL IGUAL QUE ESTA TRADUCCIÓN, CON EL SELLO DE MARÍA MARGARITA CANCINO M., TRADUCTORA E INTERPRETE OFICIAL EN INGLÉS SEGÚN RESOLUCIÓN NO. 1448 DEL MINISTERIO DE JUSTICIA.

CEN 188/249 COLOMBIA

CERTIFICADO DE NOTARIO PUBLICO

Yo, CHRISTINA A. CLICKNER, Notario Público del Estado de New Jersey, con comisión que expira el 2 de marzo de 2005, certifico lo siguiente:

1. CENTOCOR INC. Es una compañía del Estado de Pennsylvania ✓
2. GUY KEVIN TOWNSEND es el Subsecretario de CENTOCOR., INC. y está autorizado para ejecutar el poder fechado el 27 de marzo de 2003 a favor de JIMENA ESCOBAR-URIBE Y/O IGNACIO ESCOBAR-URIBE.

Ejecutado EL 27 de marzo de 2003-05-25

Firmado por
CHRISTINA A. CLICKNER

Hay sello seco de NOTARIO PUBLICO - New Jersey
Firmado: Christina A. Clickner
Notario Público, Estado de New Jersey
Mi comisión expira en marzo 2, 2005

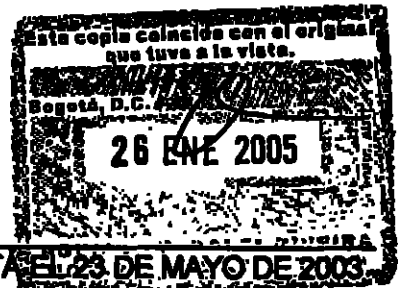
EN PÁGINA ADJUNTA HAY APOSTILLA APOSTILLA

(Convención de la Haya del 5 de octubre de 1961)

1. País: Estados Unidos de América
Este documento público
2. ha sido firmado por: Christina A. Clickner
3. actuando en su capacidad de: Notario Público de New Jersey
4. lleva el sello de : Christina A. Clickner - Notario

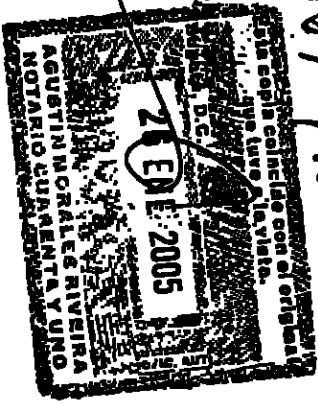
CERTIFICADO

5. en Trenton
6. el 24 de abril de 2003
- 7- por John E. McCormac, CPA, Tesorero New Jersey
8. No. A179759
9. Sello: Tesorería New Jersey
10. Firma: ilegible.



ESTA ES UNA TRADUCCIÓN FIEL Y COMPLETA HECHA EN BOGOTÁ EL 23 DE MAYO DE 2003.

Maria Margarita Cancino M.
MARÍA MARGARITA CANCINO M.
Traductora e Intérprete Oficial
Resolución No. 1448 Minjusticia



300610

81970418
TENEN
AGUSTIN MORALES RIVERA
LAS FUENTES, GUATEMALA

HO SE ASUME
FIDUCIA DEL TEXTO
2007 MAY 28 A III 10
CIONES

TRADUCCIÓN OFICIAL NO. 5949 de UN DOCUMENTO ESCRITO EN INGLES, EL CUAL, PARA SU IDENTIFICACIÓN, SE SELLA, AL IGUAL QUE ESTA TRADUCCIÓN, CON EL SELLO DE MARÍA MARGARITA CANCINO M., TRADUCTORA E INTERPRETE OFICIAL EN INGLÉS SEGÚN RESOLUCIÓN NO. 1448 DEL MINISTERIO DE JUSTICIA.

CEN 186/249 COLOMBIA

CERTIFICADO DE NOTARIO PUBLICO

Yo, CHRISTINA A. CLICKNER, Notario Público del Estado de New Jersey, con comisión que expira el 2 de marzo de 2005, certifico lo siguiente:

1. CENTOCOR INC. Es una compañía del Estado de Pennsylvania
2. GUY KEVIN TOWNSEND es el Subsecretario de CENTOCOR., INC. y está autorizado para ejecutar el poder fechado el 27 de marzo de 2003 a favor de JIMENA ESCOBAR-URIBE Y/O IGNACIO ESCOBAR-URIBE.

Ejecutado EL 27 de marzo de 2003-05-25

Firmado por
CHRISTINA A. CLICKNER

Hay sello seco de NOTARIO PUBLICO - New Jersey
Firmado: Christina A. Clickner
Notario Público, Estado de New Jersey
Mi comisión expira en marzo 2, 2005

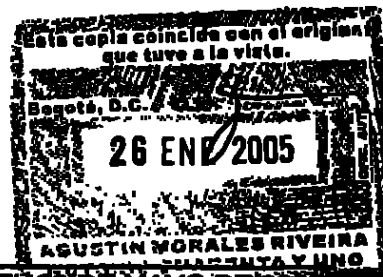
EN PÁGINA ADJUNTA HAY APOSTILLA APOSTILLA

(Convención de la Haya del 5 de octubre de 1961)

1. País: Estados Unidos de América
Este documento público
2. ha sido firmado por: Christina A. Clickner
3. actuando en su capacidad de: Notario Público de New Jersey
4. lleva el sello de : Christina A. Clickner - Notario

CERTIFICADO

5. en Trenton
6. el 24 de abril de 2003
- 7- por John E. McCormac, CPA, Tesorero New Jersey
8. No. A179759
9. Sello: Tesorería New Jersey
10. Firma: ilegible.



ESTA ES UNA TRADUCCIÓN FIEL Y COMPLETA HECHA EN BOGOTÁ EL 25 DE MAYO DE 2005

Maria Margarita Cancino M.
MARIA MARGARITA CANCINO M.
Traductora e Intérprete Oficial
Resolución No. 1448 Minjusticia

67

67

NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

01 MAR 28 1992

SECRETARÍA DE JUSTICIA

SECRETARÍA DE JUSTICIA

01 MAR 28 1992

SECRETARÍA DE JUSTICIA

Esta copia coincide con el original
que tuvo a la vista.

28-ENE-2005

AGUSTIN NORALEA RIVERA
NOTARIO CUARENTA Y UNO

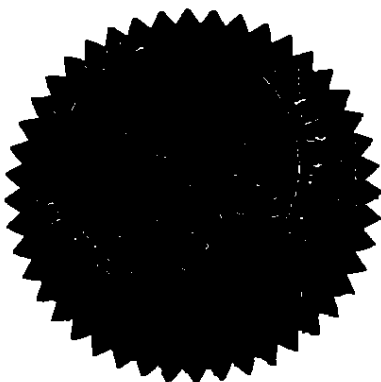
APOSTILLE

(CONVENTION DE LA HAYE DU 5 OCTOBRE 1961)

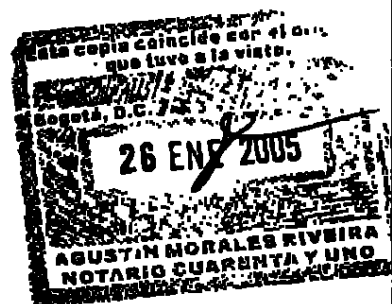
1. COUNTRY: UNITED STATES OF AMERICA
2. THIS PUBLIC DOCUMENT HAS BEEN SIGNED BY:
CHRISTINA A CLICKNER
3. ACTING IN THE CAPACITY OF:
NOTARY PUBLIC OF NEW JERSEY
4. BEARS THE SEAL/STAMP OF:
CHRISTINA A CLICKNER, NOTARY

CERTIFIED

5. AT TRENTON, NEW JERSEY
6. THE 24TH DAY OF APRIL 2003
7. BY: John E McCormac, CPA, NEW JERSEY TREASURER
8. NO. A170759
9. SEAL/STAMP:
10. SIGNATURE



John E McCormac



CEN 186/249 COLOMBIA

CERTIFICATION BY PUBLIC NOTARY

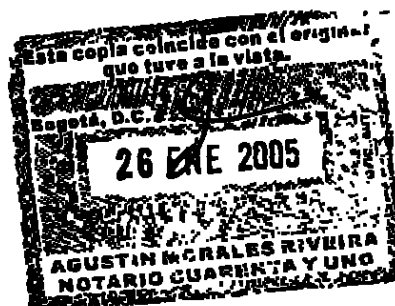
I, CHRISTINA A. CLICKNER, a Notary Public of the State of New Jersey whose commission expires on March 2, 2005 certify as follows:

1. CENTOCOR, INC. is a corporation of the State of Pennsylvania.
2. GUY KEVIN TOWNSEND is an Assistant Secretary of CENTOCOR, INC. and was authorized to execute the Power of Attorney dated March 27, 2003 in favor of JIMENA ESCOBAR-URIBE and/or IGNACIO ESCOBAR-URIBE.

Executed this 27th day of March, 2003


CHRISTINA A. CLICKNER

CHRISTINA A. CLICKNER
NOTARY PUBLIC, STATE OF NEW JERSEY
MY COMMISSION EXPIRES MAR. 2, 2005



RESUMEN

**CUERPOS MIMÉTICOS DE EPO MIMÉTICA MAMÍFERA CH1 SUPRIMIDA,
COMPOSICIONES, MÉTODOS Y USOS**

5 La presente invención se refiere a por lo menos un novedoso cuerpo
mimético de EPO mimética CH1 suprimida o porción especificada o variante
humana, que incluye ácidos nucleicos aislados que codifican al menos un cuerpo
mimético de EPO mimética CH1 suprimida o porción especificada o variante,
cuerpo mimético CH1 suprimida o porción especificada o variantes, vectores,
10 células huésped, animales o plantas transgénicos, y métodos para realizar y
utilizar los mismos, que incluye composiciones terapéuticas, métodos y
dispositivos.

15

12
14.

CUERPOS MIMÉTICOS DE EPO MIMÉTICA MAMÍFERA CH1 SUPRIMIDA, COMPOSICIONES, MÉTODOS Y USOS

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

5

CAMPO DE LA INVENCION.

La presente invención se relaciona con cuerpos miméticos de EPO mamífera mimética CH1 suprimida, porciones especificadas y variantes específicas para proteínas activas biológicamente, fragmentos o ligandos, cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida codificante y ácidos nucleicos complementarios, células huésped, y métodos de producción y uso de ellos, que incluyen formulaciones terapéuticas, administración y dispositivos.

15 ARTE RELACIONADO

Las proteínas recombinantes son una clase emergente de agentes terapéuticos. Tales terapéuticos recombinantes han generado avances en la formulación de proteína y la modificación química. Tales modificaciones pueden mejorar potencialmente la utilidad terapéutica de las proteínas terapéuticas, mediante el incremento de vidas medias (e.g., por bloqueo de sus exposiciones a enzimas proteolíticas), actividad biológica mejorada, o reduciendo efectos colaterales indeseados. Una de tales modificaciones es el uso de fragmentos de

inmunoglobulina unidos a las proteínas receptoras, los que entran totalmente aceptados. Las proteínas terapéuticas también han sido construidas utilizando el dominio Fc con el intento de proporcionar un tiempo de vida media más largo o para incorporar funciones tales como enlazantes del receptor Fc, enlazantes de la proteína A y fijación de complemento.

Una función específica y vital del sistema hematopoyético mamífero es la producción de eritrocitos, o células rojas sanguíneas, las cuales transportan oxígeno a los diversos tejidos del cuerpo del animal. El proceso de producción de eritrocitos ("eritropoyesis") ocurre continuamente a lo largo de la vida del animal para compensar la destrucción de eritrocitos. La célula sanguínea roja típica tiene un ciclo de vida relativamente corto, usualmente de 100 a 120 días. La eritropoyesis es un mecanismo fisiológico controlado precisamente de tal manera que se producen números suficientes de eritrocitos para permitir la oxigenación apropiada de los tejidos, pero no tantos como para impedir la circulación.

Ahora se conoce que la eritropoyesis es controlada primariamente por el polipéptido eritropoyetina (EPO), una glicoproteína ácida. La eritropoyetina se produce como resultado de la expresión de un gen de copia única localizado en un cromosoma de un mamífero. La secuencia de aminoácido para la EPO humana recombinante ("rHuEPO") es sustancialmente idéntica a la secuencia de aminoácido para la EPO obtenida a partir de fuentes urinarias humanas. Sin

embargo la glicosilación de la rHuEPO difiere entre la EPO urinaria y la EPO del suero humano.

En un mamífero saludable, la EPO está presente en el plasma sanguíneo en muy bajas concentraciones, puesto que los tejidos están siendo oxigenados suficientemente por el número existente de eritrocitos que circulan. La EPO presente estimula la producción de eritrocitos nuevos para reemplazar aquellos perdidos por el proceso de envejecimiento. Adicionalmente, la producción de EPO es estimulada bajo condiciones de hipoxia, en donde el suministro de oxígeno a los tejidos del cuerpo se reduce por debajo de los niveles fisiológicos normales a pesar de la perfusión adecuada de los tejidos por la sangre. La hipoxia puede ser causada por hemorragia, destrucción de eritrocitos por radiación, anemias varias, altitudes altas, o periodos largos de inconciencia. En contraposición a que, el número de células sanguíneas rojas en la circulación se debería exceder por que se necesita para una normal oxigenación del tejido, la producción de EPO se reduce.

Sin embargo, ciertos estados de enfermedad involucran eritropoyesis anormal. La EPO humana recombinante (rHuEPO) esta siendo utilizada terapéuticamente en un número de países. En los Estados Unidos, la U.S. Food and Drug Administration (FDA) a aprobado el uso de la rHuEPO en el tratamiento de la anemia asociada con la enfermedad renal en etapa terminal. Los pacientes sometidos a hemodiálisis para tratar este desorden sufren típicamente de anemia

severa, causada por la ruptura y muerte prematura de los eritrocitos como resultado del tratamiento de diálisis. La EPO también es útil en el tratamiento de otros tipos de anemia. Por ejemplo, anemia inducida por quimioterapia, anemia asociada con mielodisplasia, aquella asociadas con varios desordenes congénitos, anemia relacionada con el SIDA, y anemia asociada con la prematuridad, se pueden tratar con EPO. Adicionalmente, la EPO puede jugar un papel importante en otras áreas, tales como ayudar a restaurar más rápidamente el hematocrito normal en pacientes con transplante de médula ósea, en pacientes que se preparan para transfusiones de sangre autólogas, y en pacientes que sufren de desordenes por sobrecarga de hierro.

La eritropoyetina (EPO) es una hormona glicoproteína compuesta de 165 aminoácidos y cuatro cadenas de carbohidratos que funciona como el regulador primario de la eritropoyesis por enlazamiento a un receptor específico sobre la superficie de las células precursoras del eritrocito. Este enlazamiento señala su proliferación y diferenciación en las células sanguíneas rojas maduras. El receptor de eritropoyetina es una glicoproteína de 484 aminoácidos con una alta afinidad por la eritropoyetina. Para el receptor de eritropoyetina, la homodimerización inducida por el ligando puede ser uno de los eventos clave que gobierna la activación.

La eritropoyetina tiene una vida media relativamente corta. La eritropoyetina administrada intravenosamente se elimina a una tasa consistente con una

cinética de primer orden con una vida media de circulación aproximadamente entre 3 a 4 horas en pacientes con FCR. Con el intervalo de dosis terapéutica, se mantienen niveles detectables de eritropoyetina en plasma por lo menos 24 horas. Después de la administración subcutánea de la eritropoyetina, se alcanzan niveles pico en suero entre 5-24 horas y posteriormente declina lentamente. La C máx y el $t_{1/2}$ después de la administración de eritropoyetina fueron 1.80 ± 0.7 U/mL y 19.0 ± 5.9 horas, respectivamente.

Las dosis iniciales de eritropoyetina están en el intervalo entre 50-150 U/Kg tres veces semanalmente. La dosificación de la eritropoyetina debe ser individualizada para mantener el hematocrito en el intervalo propuesto sugerido. Para pacientes de cirugía la dosis recomendada de eritropoyetina es 300 U/Kg/día s.c. por 10 días antes de la cirugía, el día de la cirugía, y por cuatro días después de la cirugía o alternativamente 600 U/Kg s.c. en dosis una vez a la semana (21, 14 y 7 días antes de la cirugía) más una cuarta dosis después de la cirugía.

Pequeños péptidos miméticos de la eritropoyetina se identificaron por muchos grupos de bibliotecas de péptidos exhibidos por el fago al azar por afinidad al receptor de la eritropoyetina. Estas secuencias no tienen homología con la eritropoyetina. En ensayos funcionales muchos de estos péptidos mostraron actividad, pero solamente en 1/100.000 de la eritropoyetina recombinante. Aunque se han hecho muchos intentos para incrementar la potencia de estos péptidos

preparando dímeros covalentes o multímeros de péptidos miméticos, estos compuestos son aún de 1.000-10.000 veces menos activos que la eritropoyetina sobre una base molar.

5 Las secuencias de péptido de la eritropoyetina también han sido reivindicadas como agonistas. La actividad incrementada de las secuencias dimerizadas que comprende cualquiera o toda la secuencia nativa de la eritropoyetina también ha sido reportada. Estos compuestos tienen una pequeña o no tienen biodisponibilidad oral y sus actividades no los hacen económicamente
10 viables actualmente.

En consecuencia, hay una necesidad de proporcionar versiones mejoradas y/o modificadas de proteínas terapéuticas EPO, las cuales solucionen uno o más de estos y otros problemas conocidos en el arte.

15

RESUMEN DE LA INVENCIÓN

La presente invención proporciona cuerpos miméticos aislados de EPO mimética humana CH1 suprimida, que incluye inmunoglobulinas modificadas,
20 productos de degradación y otras porciones especificadas y variantes de ellos, así como también composiciones de cuerpos miméticos de EPO mimética CH1 suprimida, codificantes o ácidos nucleicos complementarios, vectores, células huésped, composiciones, formulaciones, dispositivos, animales transgénicos,

plantas transgénicas, y métodos para la producción y utilización de ellos, como aquí se describe y/o se capacita, en combinación con lo que se conoce en el arte.

La presente invención también proporciona por lo menos un cuerpo
5 mimético aislado de EPO mimética CH1 suprimida o porción especificada o variante como aquí se describe y/o se conoce en el arte. El cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida opcionalmente puede comprender por lo menos una región CH3 unida directamente con por lo menos una región CH2 unida directamente con por lo menos una región de giro o fragmento de ella unido
10 directamente con por lo menos una región parcial V, unida directamente con una secuencia ligante opcional, unida directamente a por lo menos un péptido terapéutico, además opcionalmente unida directamente con por lo menos una porción de por lo menos una secuencia de anticuerpo variable. En una incorporación preferida un par de CH3-CH2-secuencia parcial J -ligante-péptido
15 terapéutico con una secuencia opción de anticuerpo N-terminal, el par unido opcionalmente por asociación o enlace covalente, tal como, pero no limitado a un enlace disulfuro Cys-Cys. En una incorporación, un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida comprende la Fórmula (I):



20 en donde V1 es por lo menos una porción de un N-termino de una región variable de inmunoglobulina, Pep es por lo menos un polipéptido bioactivo de EPO mimética, Flex es un polipéptido que proporciona flexibilidad estructural para permitir que el cuerpo mimético tenga orientaciones alternativas y propiedades

enlazantes, V2 es por lo menos una porción de un C-termino de una región variable de inmunoglobulina, pGiro es por lo menos una porción de una región de giro variable de inmunoglobulina, CH2 es por lo menos una porción de una región constante CH2 de inmunoglobulina, CH3 es por lo menos una porción de una región constante CH3 de inmunoglobulina, n y m pueden ser un entero entre 1 y 10, imitando diferentes tipos de moléculas de inmunoglobulina, e.g., pero no limitadas a IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1, IgA2, IgM, IgD, IgE y similares, o combinaciones de ellas.

10 Así, un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida de la presente invención imita por lo menos una porción de un anticuerpo o estructura de inmunoglobulina o función con sus propiedades y funciones inherentes, a la vez que proporciona un péptido terapéutico y sus propiedades o actividades inherentes o adquiridas in vitro, in vivo o in situ. Las porciones varias del anticuerpo y las porciones de péptido terapéutico de por lo menos un cuerpo 15 mimético de EPO mimética CH1 suprimida de la presente invención pueden variar como aquí se describe en combinación con lo que se conoce en el arte.

La presente invención proporciona, en un aspecto moléculas aisladas de 20 ácido nucleico que comprenden, complementario, que tienen identidad significativa o hibridizante para, un polinucleótido que codifica cuerpos miméticos específicos o porciones especificadas o variantes de ellos, que comprende por lo menos una secuencia especificada, dominio, porción o variante de ellos. La presente

invención proporciona además vectores recombinantes que comprenden por lo menos una de dichas moléculas de ácido nucleico aislada de un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida, células huésped que contienen tales ácidos nucleicos y/o vectores recombinantes, así como también métodos de producción y/o utilización de tales ácidos nucleicos de cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida, vectores y/o células huésped.

Por lo menos un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o porción especificada o variante de la invención imita la unión de la porción Pep del cuerpo mimético a por lo menos un ligando, o tiene por lo menos una actividad biológica de, por lo menos una proteína, subunidad, fragmento, porción o cualquier combinación de ellos.

La presente invención también proporciona por lo menos un cuerpo mimético aislado de EPO mimética CH1 suprimida o porción especificada o variante como aquí se describe o como se conoce en el arte, en donde el cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o porción especificada o variante tiene por lo menos una actividad, tal como, pero no limitada a actividades biológicas conocidas de por lo menos un péptido bioactivo o polipéptido que corresponde a la porción Pep de la Fórmula I. Un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida puede así ser tamizado para una actividad correspondiente de acuerdo con los métodos conocidos, tal como por lo menos una actividad neutralizante tocante a una proteína o fragmento de ella.

La presente invención proporciona también por lo menos una composición que comprende (a) por lo menos un cuerpo mimético aislado de EPO mimética CH1 suprimida o porción especificada o variante que codifica el ácido nucleico y/o el cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida como aquí se describe; y (b) un portador o diluyente adecuado. El portador o diluyente opcionalmente puede ser aceptable farmacéuticamente, de acuerdo con los métodos conocidos. La composición opcionalmente puede comprender además por lo menos un compuesto adicional, proteína o composición.

10

La presente invención proporciona también por lo menos un método para la expresión de por lo menos un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o porción especificada o variante en una célula huésped, que comprende cultivar una célula huésped como aquí se describe y/o como se conoce en el arte bajo condiciones en las que por lo menos un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o porción especificada o variante se expresa en cantidades detectables y/o recuperables.

15

La presente invención proporciona además por lo menos un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida, porción especificada o variante en un método o composición, cuando se administra en una cantidad efectiva terapéuticamente, para la modulación, para el tratamiento o reducción de los síntomas de por lo menos uno de un desorden en el hueso y la articulación,

20

desorden cardiovascular, desorden dental u oral, un desorden dermatológico, un desorden en el oído, la nariz o la garganta, un desorden endocrino o metabólico, un desorden gastrointestinal, un desorden ginecológico, un desorden hepático o biliar, un desorden obstétrico, un desorden hematológico, un desorden inmunológico o alérgico, una enfermedad infecciosa, un desorden del músculo esquelético, un desorden oncológico, un desorden neurológico, un desorden nutricional, un desorden oftalmológico, un desorden pediátrico, un desorden por envenenamiento, un desorden psiquiátrico, un desorden renal, un desorden pulmonar, o cualquier otro desorden conocido. (Ver., e.g., The Merck Manual, 17th ed., Merck Research Laboratories, Merck and Co., Whitehouse Station, NJ (1999), incorporada totalmente aquí por referencia) cuando se necesite en varias condiciones diferentes, tales como pero no limitadas a, previo a, subsiguiente a, o durante una enfermedad relacionada o condición de tratamiento, como se conoce en el arte.

15

La presente invención proporciona además por lo menos un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida, porción especificada o variante en un método o composición, cuando se administra en una cantidad efectiva terapéuticamente, para la modulación, para el tratamiento o reducción de los síntomas de, por lo menos una enfermedad inmune, cardiovascular, infecciosa, maligna, y/o neurológica en una célula, tejido, órgano, animal o paciente y/o, cuando se necesite en varias condiciones diferentes, tales como pero no limitadas

20

a, previo a, subsiguiente a, o durante una enfermedad relacionada o condición de tratamiento, como se conoce en el arte y/o como aquí se describe.

La presente invención proporciona también por lo menos una composición,
5 dispositivo y/o método de entrega de una cantidad efectiva terapéuticamente o profilácticamente de por lo menos un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o porción especificada o variante, de acuerdo con la presente invención.

La presente invención proporciona además por lo menos un anticuerpo anti-
10 idiotipo para por lo menos un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida de la presente invención. El anticuerpo anti-idiotipo incluye cualquier proteína o péptido que contiene la molécula que comprende por lo menos una porción de una molécula de inmunoglobulina, tal como pero no limitada a por lo menos una región que determina complementariedad (RDC) de una cadena pesada o liviana o una
15 porción enlazante del ligando de ellas, una cadena pesada o una cadena liviana de la región variable, una cadena pesada o una cadena liviana de la región constante, una región estructural, o cualquier porción de ellas que une competitivamente una región enlazante del receptor EPO de por lo menos un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida de la presente invención. Tales
20 anticuerpos idiotipo de la invención pueden incluir o ser derivados de cualquier mamífero, tal como pero no limitado a un humano, un ratón, un conejo, una rata, un roedor, un primate, y similares.

La presente invención proporciona también por lo menos una molécula aislada de ácido nucleico que comprende, complementario, o que hibridiza a, un polinucleótido que codifica por lo menos un anticuerpo anti-idiotipo de un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida, que comprende por lo menos una
5 secuencia especificada, dominio, porción o variante de ellas. La presente invención proporciona además vectores recombinantes que comprenden dichas moléculas de ácido nucleico que codifican el anticuerpo anti-idiotipo de cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida, células huésped que contienen tales ácidos nucleicos y/o vectores recombinantes, así como también métodos de
10 producción y/o utilización de tales ácidos nucleicos de anticuerpos anti-idiotipo, vectores y/o células huésped.

La presente invención proporciona también por lo menos un método para la expresión de por lo menos un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida,
15 o un anticuerpo anti-idiotipo de cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida, en una célula huésped, que comprende cultivar una célula huésped como aquí se describe bajo condiciones en las que por lo menos un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o anticuerpo anti-idiotipo se expresa en cantidades detectables y/o recuperables.

20

La presente invención también proporciona por lo menos una composición que comprende (a) un ácido nucleico aislado que codifica un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida y/o cuerpo mimético de EPO mimética CH1

suprimida como aquí se describe; y (b) un portador o diluyente adecuado. El portador o diluyente opcionalmente puede ser aceptable farmacéuticamente, de acuerdo con los vehículos o diluyentes conocidos. La composición opcionalmente puede además comprender por lo menos un compuesto adicional, proteína o
5 composición.

La presente invención además proporciona por lo menos un método o composición de cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida, para administrar una cantidad efectiva terapéuticamente, para modular o tratar por lo
10 menos una condición relacionada con la proteína en una célula, tejido, órgano, animal o paciente y/o, previo a, subsiguiente a, o durante una condición relacionada, como se conoce en el arte y/o como aquí se describe.

La presente invención proporciona también por lo menos una composición,
15 dispositivo y/o método de entrega de una cantidad efectiva terapéuticamente o profilácticamente de por lo menos un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida, de acuerdo con la presente invención.

La presente invención además proporciona por lo menos un método o
20 composición de cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida, para diagnosticar por lo menos una condición relacionada con la EPO en una célula, tejido, órgano, animal o paciente y/o previo a, subsiguiente a, o durante una condición relacionada, como se conoce en el arte y/o como aquí se describe.

La presente invención también proporciona por lo menos una composición, dispositivo y/o método de entrega para el diagnóstico de por lo menos un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida, de acuerdo con la presente invención.

5

En un aspecto, la presente invención proporciona por lo menos un cuerpo mimético aislado de EPO mamífera mimética CH1 suprimida, que comprende por lo menos una región Pep(n) que comprende por lo menos una porción de por lo menos una de la SEQ ID NOS:1-42, e.g., como se presenta en la tabla 1 más abajo, u opcionalmente con una o más sustituciones, supresiones o inserciones como aquí se describe o como se conoce en el arte. En otro aspecto la presente invención proporciona por lo menos un cuerpo mimético aislado de EPO mamífera CH1 suprimida, en donde cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida une específicamente por lo menos un epitopo que comprende por lo menos 1-3 de por lo menos un ligando o región enlazante la cual une ligando a por lo menos una porción de por lo menos una de la SEQ ID NOS:1-42 como se presenta en la tabla 1 más abajo, u opcionalmente con una o más sustituciones, supresiones o inserciones como aquí se describe o como se conoce en el arte.

10

15

20

El por lo menos un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida opcionalmente puede promover por lo menos uno de: unir proteína con una afinidad de por lo menos una seleccionada de por lo menos 10^{-9} M, por lo menos 10^{-10} M, por lo menos 10^{-11} M, o por lo menos 10^{-12} M; neutraliza sustancialmente

por lo menos una actividad de por lo menos una proteína o porción de la misma.

También se proporciona un ácido nucleico aislado que codifica por lo menos un cuerpo mimético aislado de EPO mamífera mimética CH1 suprimida; un vector de

ácido nucleico aislado que comprende al ácido nucleico aislado y/o una célula

5 huésped eucariota o procariota que comprende el ácido nucleico aislado. La célula

huésped opcionalmente puede ser por lo menos una seleccionada de COS-1,

COS-7, HEK293, BHK21, CHO, BSC-1, Hep G2, 653, SP2/0, 293, HeLa, mieloma

o células de linfoma o cualquier derivado, célula inmortalizada o transformada de

las mismas. También se proporciona un método para producir por lo menos un

10 cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida, que comprende traducir el

ácido nucleico que codifica el cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida

bajo condiciones in vitro, in vivo o in situ, tal que el cuerpo mimético de EPO

mimética CH1 suprimida se expresa en cantidades detectables o recuperables.

15 También se proporciona una composición que comprende por lo menos un

cuerpo mimético aislado de EPO mamífera mimética CH1 suprimida y por lo

menos un portador diluyente aceptable farmacéuticamente. La composición

puede además comprender opcionalmente una cantidad efectiva de por lo menos

un compuesto o proteína seleccionado de por lo menos uno de una marca

20 detectable o reportero, un medicamento anti-infeccioso, un medicamento para el

sistema cardiovascular (CV), un medicamento para el sistema nervioso central

(SNC), un medicamento para el sistema nervioso autónomo (SNA), un

medicamento para el tracto respiratorio, un medicamento para el tracto

gastrointestinal (GI), un medicamento hormonal, un medicamento para líquido o balance de electrolitos, un medicamento hematológico, un antineoplástico, un medicamento para inmunomodulación, un medicamento oftálmico,ótico o nasal, un medicamento tópico, un medicamento nutricional, un antagonista TNF, un
5 antirreumático, un relajante muscular, un narcótico, un medicamento anti-inflamatorio no esteroide (AINES), un analgésico, un anestésico, un sedante, un anestésico local, un bloqueador neuromuscular, un antimicrobiano, un anti-psoriasis, un corticosteroide, un esteroide anabólico, una eritropoyetina, una inmunización, una inmunoglobulina, un inmunosupresor, una hormona de
10 crecimiento, un medicamento de reemplazo hormonal, un radiofarmacéutico, un antidepresivo, un antipsicótico, un estimulante, una medicación para el asma, un agonista beta, un esteroide inhalado, una epinefrina o análogo, una citoquina, o un antagonista de citoquina.

15 La presente invención proporciona además anticuerpos anti-idiotipo o fragmentos que unen específicamente por lo menos un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida de la presente invención.

También se proporciona un método para diagnosticar o tratar una condición
20 de enfermedad en una célula, tejido, órgano o animal que comprende:

(a) contactar o administrar una composición que comprende una cantidad efectiva de por lo menos un cuerpo mimético aislado de EPO mamífera mimética CH1 suprimida de la invención con, o para, la célula, tejido, órgano o

animal. El método opcionalmente puede además comprender el uso de una cantidad efectiva de 0.001-50 mg/kilogramo de las células, tejido, órgano o animal.

El método opcionalmente puede además comprender el uso del contacto o la administración por al menos un modo seleccionado de parenteral, subcutáneo,

5 intramuscular, intravenoso, intra-articular, intrabronquial, intracapsular, intracartilaginoso, intracavitario, intracelial, intracerebelar, intracerebroventricular, intracólico, intracervical, intragástrico, intrahepático, intramiocardial, intraoseo, intrapélvico, intrapericardiaco, intraperitoneal, intrapleural, intraprostático, intrapulmonar, intrarectal, intrarenal, intraretinal, intraespinal, intrasinovial,

10 intratorácico, iontrauterino, intravesical, bolus, vaginal, rectal, bucal, sublingual, intranasal o transdérmico. El método opcionalmente puede comprender además la

administración, previa, concurrente o posterior al (a) contacto o administración, por lo menos una composición comprende una cantidad efectiva de por lo menos un

compuesto o proteína seleccionado de por lo menos uno de una marca detectable

15 o reportero, un medicamento anti-infeccioso, un medicamento para el sistema cardiovascular (CV), un medicamento para el sistema nervioso central (SNC), un medicamento para el sistema nervioso autónomo (SNA), un medicamento para el

tracto respiratorio, un medicamento para el tracto gastrointestinal (GI), un medicamento hormonal, un medicamento para líquido o balance de electrolitos, un

20 medicamento hematológico, un antineoplástico, un medicamento para inmunomodulación, un medicamento oftálmico,ótico o nasal, un medicamento

tópico, un medicamento nutricional, un antagonista TNF, un antirreumático, un relajante muscular, un narcótico, un medicamento anti-inflamatorio no esteroideal

(AINES), un analgésico, un anestésico, un sedante, un anestésico local, un bloqueador neuromuscular, un antimicrobiano, un anti-psoriasis, un corticosteroide, un esteroide anabólico, una eritropoyetina, una inmunización, una inmunoglobulina, un inmunosupresor, una hormona de crecimiento, un medicamento de reemplazo hormonal, un radiofarmaceutico, un antidepresivo, un antipsicótico, un estimulante, una medicación para el asma, un agonista beta, un esteroide inhalado, una epinefrina o análogo, una citoquina, o un antagonista de citoquina.

10 También se proporciona un dispositivo médico, que comprende por lo menos un cuerpo mimético aislado de EPO mamífera mimética CH1 suprimida de la invención, en donde el dispositivo es adecuado para contactar o administrar el por lo menos un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida, por lo menos de un modo seleccionado de parenteral, subcutáneo, intramuscular, intravenoso, 15 intra-articular, intrabronquial, intra-abdominal, intracapsular, intracartilagíneo, intracavitario, intracelial, intracerebelar, intracerebroventricular, intracólico, intracervical, intragástrico, intrahepático, intramiocardial, intra-oseo, intrapélvico, intrapericardiaco, intraperitoneal, intrapleural, intraprostático, intrapulmonar, intrarectal, intrarenal, intraretinal, intra-espinal, intrasinovial, intratorácico, 20 intrauterino, intravesical, bolus, vaginal, rectal, bucal, sublingual, intranasal o transdérmico.

También se proporciona un artículo de fabricación para uso farmacéutico humano o diagnóstico, que comprende el material de empaque y un contenedor que comprende una solución o un liofilizado a partir de por lo menos un cuerpo mimético aislado de EPO mamífera mimética CH1 suprimida de la presente invención. El artículo de manufactura puede opcionalmente comprender la tenencia del contenedor como un componente de un dispositivo o sistema de entrega parenteral, subcutáneo, intramuscular, intravenoso, intra-articular, intrabronquial, intra-abdominal, intracapsular, intracartilaginoso, intracavitario, intracelular, intracerebelar, intracerebroventricular, intracólico, intracervical, intragástrico, intrahepático, intramiocardial, intra-oseo, intrapélvico, intrapericardiaco, intraperitoneal, intrapleural, intraprostático, intrapulmonar, intrarectal, intrarenal, intraretinal, intra-espinal, intrasinovial, intratorácico, intrauterino, intravesical, bolus, vaginal, rectal, bucal, sublingual, intranasal o transdérmico.

15

También se proporciona un método para producir por lo menos un cuerpo mimético aislado de EPO mamífera mimética CH1 suprimida de la presente invención, que comprende proporcionar una célula huésped o un animal transgénico o una planta transgénica o una célula de una planta capaz de expresar y recuperar cantidades del cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida. Además se proporciona en la presente invención por lo menos un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida producido por el método anterior.

20

La presente invención también proporciona por lo menos un método para expresar por lo menos un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida, o un anticuerpo anti-idiotipo, en una célula huésped que comprende cultivar una célula huésped como se describe aquí bajo condiciones en las que por lo menos un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida se expresa en cantidades detectables y/o recuperables.

La presente invención además proporciona cualquier invención descrita aquí.

DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

La presente invención proporciona cuerpos miméticos aislados, recombinantes y/o sintéticos o porciones especificadas o variantes, así como también composiciones y moléculas codificantes de ácido nucleico que comprenden por lo menos un polinucleótido que comprende por lo menos un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida. Tales cuerpos miméticos o porciones especificadas o variantes de la presente invención comprenden secuencias específicas de cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida, dominios, fragmentos y variantes especificadas, y métodos para producir y utilizar dichos ácidos nucleicos y cuerpos miméticos o porciones especificadas o variantes, que incluyen composiciones terapéuticas, métodos y dispositivos.

La presente invención también proporciona por lo menos un cuerpo mimético aislado de EPO mimética CH1 suprimida o porción especificada o variante como aquí se describe y/o como se conoce en el arte. El cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida opcionalmente puede comprender por lo menos una región CH3 unida directamente con por lo menos una región CH2 unida directamente con por lo menos una región de giro o fragmento de ella unido directamente con por lo menos una región parcial V, unida directamente con una secuencia ligante opcional, unida directamente a por lo menos un péptido terapéutico, además opcionalmente unida directamente con por lo menos una porción de secuencia variable de anticuerpo.

En una incorporación preferida un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida comprende la Fórmula (I):

(V1(n)-Pep(n)-Flex(n)-V2(n)-pGiro(n)-CH2(n)-CH3(n))(m),

en donde V1 es por lo menos una porción de un N-termino de una región variable de inmunoglobulina, Pep es por lo menos un péptido bioactivo, Flex es un polipéptido que proporciona flexibilidad estructural para permitir que el cuerpo mimético tenga orientaciones alternativas y propiedades enlazantes, V2 es por lo menos una porción de un C-termino de una región variable de inmunoglobulina, pGiro es por lo menos una porción de una región de giro variable de inmunoglobulina, CH2 es por lo menos una porción de una región constante CH2 de inmunoglobulina, CH3 es por lo menos una porción de una región constante

CH3 de inmunoglobulina, n y m pueden ser un entero entre 1 y 10, imitando
diferente tipos de moléculas de inmunoglobulina, e.g., pero no limitadas a IgG1,
IgG2, IgG3, IgG4, IgA, IgM, IgD, IgE y similares, o combinaciones de ellas. El
monómero en donde m=1 puede estar unido a otros monómeros por asociación o
5 enlace covalente, tal como, pero no limitado a un enlace disulfuro CYS-CYS. Así,
un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida de la presente invención
imita una estructura de anticuerpo con sus propiedades y funciones inherentes, a
la vez que proporciona un péptido terapéutico y sus propiedades o actividades
inherentes o adquiridas *in vitro*, *in vivo* o *in situ*. Las porciones varias del
10 anticuerpo y las porciones de péptido terapéutico de por lo menos un cuerpo
mimético de EPO mimética CH1 suprimida de la presente invención pueden variar
como aquí se describe en combinación con lo que se conoce en el arte.

Como aquí se usa, un "cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida",
15 "porción de cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida", o "fragmento de
cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida" y/o "variante de cuerpo
mimético de EPO mimética CH1 suprimida" y la similar imita, tiene o simula por lo
menos un ligando enlazante o por lo menos una actividad biológica de por lo
menos una proteína tal como ligando enlazante o actividad *in vitro*, *in situ* y/o
20 preferiblemente *in vivo*, tal como pero no limitado a uno de la SEQ ID NOS:1-1110.
Por ejemplo, un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida adecuado,
porción especificada o variante de la presente invención puede unirse a por lo
menos un ligando de proteína e incluye por lo menos un ligando de proteína,

receptor, receptor soluble, y similares. Un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida adecuado, porción especificada, o variante también puede modular, incrementar, modificar, activar, por lo menos una señalización del receptor de proteína u otra actividad medible o detectable.

5

Los cuerpos miméticos útiles en los métodos y las composiciones de la presente invención se caracterizan por la adecuada afinidad enlazante a ligandos de proteína o receptores y opcionalmente y preferiblemente que tengan baja toxicidad. En particular, es útil en la presente invención un cuerpo mimético de

10

EPO mimética CH1 suprimida donde los componentes individuales, tales como la porción de región variable, la región constante (sin una porción CH1) y estructural, o cualquier porción de ellas (e.g., una porción de las regiones J, D o V de la cadena pesada variable o liviana; la región de giro, la cadena pesada constante o la cadena liviana, y similares) opcionalmente individualmente y/o colectivamente y

15

preferiblemente posee baja inmunogenicidad. Los cuerpos miméticos que pueden ser utilizados en la invención opcionalmente se caracterizan por su habilidad para tratar pacientes por períodos extendidos con buen a excelente alivio de los síntomas y baja toxicidad. La baja inmunogenicidad y/o la alta afinidad, así como también otras propiedades no definidas, pueden contribuir a los resultados

20

terapéuticos alcanzados. " La inmunogenicidad baja" se define aquí como las respuestas significantes ascendentes a HAMA, HACA o HAHA en menos de cerca del 75%, o preferiblemente menos de cerca de 50, 45, 40, 35, 30, 25, 20, 15, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 y/o 1% de los pacientes tratados y/o títulos bajos ascendentes

en los pacientes tratados (menos de cerca de 300, preferiblemente menos de 100 medidos con un inmuno-ensayo doble de enzima antígeno)(ver, e.g., Elliott *et al.*, *Lancet* 344:1125-1127 (1994)).

5 *Utilidad*

Los ácidos nucleicos aislados de la presente invención pueden ser utilizados para la producción de un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida, fragmento o variante especificada de ella, los cuales pueden ser usados para efectuar en una
10 célula, tejido, órgano o animal (que incluye mamíferos y humanos), para modular, tratar, aliviar, ayudar a prevenir la incidencia de, o reducir los síntomas de, por lo menos una condición relacionada con la proteína, seleccionada de, pero no limitada a, por lo menos uno de un desorden o enfermedad inmune, un desorden o enfermedad cardiovascular, un desorden o enfermedad infecciosa, maligna, y/o
15 neurológica, una anemia (n); una inmune/autoinmune (n); y/o un cancer/infección (n), así como también otras condiciones conocidas relacionadas con la proteína especificada.

Tal método puede comprender la administración de una cantidad efectiva
20 de una composición o una composición farmacéutica que comprende por lo menos un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o porción especificada o variante a una célula, tejido, órgano, animal o paciente en necesidad de tal modulación, tratamiento, alivio, prevención o reducción en los síntomas, efectos o

mecanismos. La cantidad efectiva puede comprender una cantidad de cerca de 0.0001 a 500 mg/kg por administración única o múltiple, o para alcanzar la concentración sérica de 0.0001-5000 µg/mL de concentración en suero por administración única o múltiple, o un intervalo efectivo o valor en el, hecho y
5 determinado utilizando métodos conocidos como aquí se describe o se conoce en los artes relevantes.

Citas

10 Todas las publicaciones o patentes citadas aquí están completamente incorporadas aquí por referencia puesto que ellas muestran el estado del arte al momento de la presente invención y/o proporcionan descripción y habilitación de la presente invención. Las publicaciones que se refieren a cualquier publicación científica o patente, o a cualquier otra información en cualquier formato que
15 incluye todos los registros, formatos electrónicos o impresos. Las siguientes referencias están totalmente incorporadas aquí por referencia: Ausubel, et al., Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, Inc., NY, NY, (1987-2002); Sambrook, et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd Edition, Cold Spring Harbor, NY (1989); Harlow and Lane, Antibodies, A Laboratory Manual,
20 Cold Spring Harbor, NY (1989); Colligan, et al ., eds., Current Protocols in Immunology, John Wiley & Sons, Inc., NY (1994-2002); Colligan et al., Current Protocols in Protein Science, John Wiley & Sons, Inc., NY, NY, (1997-2002).

Cuerpos Miméticos de la Presente Invención

El cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida puede comprender por lo
 5 menos una región CH3 unida directamente con por lo menos una región CH2
 unida directamente con por lo menos una región de giro o fragmento de ella unido
 directamente con por lo menos una región parcial V, unida directamente con una
 secuencia ligante opcional, unida directamente a por lo menos un péptido
 terapéutico, además opcionalmente unida directamente con por lo menos una
 10 porción de por lo menos una secuencia de anticuerpo variable. En una
 incorporación preferida un par de CH3-CH2-secuencia parcial J -ligante-péptido
 terapéutico con una secuencia opción de anticuerpo N-terminal, el par unido por
 asociación o enlace covalente, tal como, pero no limitado a un enlace disulfuro
 Cys-Cys. Así, un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida de la presente
 15 invención imita una estructura de anticuerpo con sus propiedades y funciones
 inherentes, a la vez que proporciona un péptido terapéutico y sus propiedades o
 actividades inherentes o adquiridas in vitro, in vivo o in situ. Las porciones varias
 del anticuerpo y las porciones de péptido terapéutico de por lo menos un cuerpo
 mimético de EPO mimética CH1 suprimida de la presente invención pueden variar
 20 como aquí se describe en combinación con lo que se conoce en el arte.

Los cuerpos miméticos de la presente invención proporcionan así por lo
 menos una propiedad adecuada al compararlos con las proteínas conocidas, tales

como, pero no limitadas a por lo menos uno de vida media incrementada, actividad incrementada, actividad más específica, avidéz incrementada, velocidad incrementada o disminuida, un seleccionado o más adecuado subconjunto de actividades, menor inmunogenicidad, calidad o duración incrementada de por lo
5 menos un efecto terapéutico, menores efectos colaterales, y similares.

Los fragmentos de cuerpos miméticos de acuerdo con la Fórmula (I) pueden ser producidos por degradación enzimática, técnicas sintéticas o recombinantes como se conoce en el arte y/o como aquí se describe. Los cuerpos
10 miméticos también se pueden producir en una variedad de formas truncadas utilizando genes de anticuerpo en los cuales uno o más codones de parada han sido introducidos corriente arriba del sitio natural de parada. Las varias porciones de cuerpos miméticos pueden ser juntas unidas químicamente por las técnicas convencionales, o pueden ser preparadas como una proteína contigua utilizando
15 técnicas de ingeniería genética. Por ejemplo, un ácido nucleico que codifica por lo menos una de las regiones constantes de una cadena de anticuerpo humana se puede expresar para producir una proteína contigua para uso en los cuerpos miméticos de la presente invención. Ver, e.g., ladner *et al.*, Patente U.S. No. 4, 946, 778 y Bird, R.E. *et al.*, *Science*, 242: 423-426 (1988), respecto de anticuerpos
20 de cadena única.

Como se usa aquí, el término "cuerpo mimético humano" se refiere a un anticuerpo en el cual sustancialmente toda la parte de la proteína (e.g., péptido

40
42

EPO mimético, estructural, dominios C_L, C_H (e.g., C_{H2}, C_{H3}, giro, (V_L, V_H)) se espera sean sustancialmente no inmunogénicas en humanos con solamente cambios o variaciones menores en la secuencia. Tales cambios o variaciones opcionalmente y preferiblemente retienen o reducen la inmunogenicidad en humanos relativa a anticuerpos humanos no modificados, o cuerpos miméticos de la presente invención. Así un anticuerpo humano y el cuerpo mimético EPO mimética CH1 suprimida correspondiente de la presente invención es distinto de un anticuerpo quimérico o humanizado. Se señala que un anticuerpo humano y el cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida se puede producir por un animal no humano o célula que sea capaz de expresar genes de inmunoglobulina humana re-acomodada funcionalmente (e.g., cadena pesada).

Los cuerpos miméticos humanos que son específicos para por lo menos un ligando de proteína o receptor de ella se pueden diseñar contra un ligando apropiado, tal como un aislado y/o receptor o ligando de proteína EPO, o una porción de el (incluyendo moléculas sintéticas, tales como péptidos sintéticos). La preparación de tales cuerpos miméticos se realiza utilizando técnicas conocidas para identificar y caracterizar las regiones o secuencias en las antes del ligando de por lo menos una proteína o porción de ella.

20

En una incorporación preferida un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida comprende la Fórmula (I)



en donde V1 es por lo menos una porción de un N-termino de una región variable de inmunoglobulina, Pep es por lo menos un péptido bioactivo de EPO mimética, Flex es un polipéptido que proporciona flexibilidad estructural para permitir que el cuerpo mimético tenga orientaciones alternativas y propiedades enlazantes, V2 es
5 por lo menos una porción de un C-termino de una región variable de inmunoglobulina, pGiro es por lo menos una porción de una región de giro variable de inmunoglobulina, CH2 es por lo menos una porción de una región constante CH2 de inmunoglobulina, CH3 es por lo menos una porción de una región constante CH3 de inmunoglobulina, n y m pueden ser un entero entre 1 y 10,
10 imitando diferente tipos de moléculas de inmunoglobulina, e.g., pero no limitadas a IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1, IgA2, IgM, IgD, IgE y similares, o combinaciones de ellas. El monómero cuando m=1 puede estar unido a otros monómeros por asociación o enlace covalente tal como pero no limitado a un enlace disulfuro Cys-Cys.

15

En una incorporación preferida, por lo menos un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o porción especificada o variante de la presente invención se produce por al menos una línea celular, línea celular mezclada, célula inmortalizada o población clonal de células inmortalizadas y/o cultivadas. La
20 proteína inmortalizada que produce células puede ser producida utilizando métodos adecuados. Preferiblemente, el por lo menos un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o porción especificada o variante se genera proporcionando ácido nucleico o vectores que comprenden DNA derivado o que

5 tienen una secuencia sustancialmente similar a, por lo menos un locus de inmunoglobulina humana que es re-acomodada funcionalmente, o la cual puede someterse a re-acomodo funcional, y la cual además comprende una estructura de cuerpo mimético como aquí se describe, e.g., pero no limitada a la Fórmula (I), en donde las porciones C- y N- terminales de las regiones variables pueden ser usadas para V1 y V2, las regiones giro para pGiro, CH2 para CH2 y CH3 para CH3 como se conoce en el arte.

10 El término "funcionalidad re-acomodada" como se usa aquí se refiere a un segmento de ácido nucleico de un locus de inmunoglobulina que ha sido sometido a recombinación V(D)J, produciendo por lo tanto un gen de inmunoglobulina que codifica una cadena de inmunoglobulina (e.g., cadena pesada), o cualquier porción de ella. Un gen de inmunoglobulina re-acomodado funcionalmente se puede identificar directa o indirectamente utilizando métodos adecuados tales como por ejemplo, secuenciación de nucleótidos, hibridización, (e.g., Manchado 15 Southern, manchado Northern) utilizando sondas que pueden reconocer para codificar uniones entre segmentos del gen o genes de inmunoglobulina de amplificación enzimática (e.g., reacción de cadena polimerasa) con iniciadores (primers) que pueden reconocer para codificar uniones entre segmentos del gen. 20 Ya sea una célula que produce un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o porción o variante que comprenden una región variable particular o una región variable que comprende una secuencia particular (e.g., por lo menos una secuencia Pep) también se pueden determinar utilizando métodos adecuados.

Los cuerpos miméticos, porciones especificadas y variantes de la presente invención adicionalmente se pueden preparar utilizando por lo menos un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o porción especificada, o variante de un ácido nucleico que codifica para proporcionar plantas transgénicas y células cultivadas de planta (e.g., pero no limitada a tabaco y maíz) que producen tales cuerpos miméticos, porciones especificadas o variantes en partes de la planta o en células cultivadas a partir de ellas. Como un ejemplo no limitante, el tabaco transgénico ha sido utilizado exitosamente para proporcionar grandes cantidades de proteínas recombinantes, ya que deja expresar las proteínas recombinantes e.g., utilizando un promotor inducible. Ver, e.g., Cramer et al., Curr. Top. Microbol Immunol. 240 : 95-118 (1999) y las referencias aquí citadas. También, el maíz transgénico o el almidón de maíz han sido utilizados para expresar proteínas mamíferas a niveles de producción comercial, con actividades biológicas equivalentes a aquellas producidas en otros sistemas recombinantes o purificadas a partir de fuentes naturales. Ver, e.g., Hood et al., Adv. Exp. Med. Biol. 464:127-147 (1999) y las referencias aquí citadas. Los anticuerpos también han sido producidos en grandes cantidades a partir de semillas de plantas transgénicas que incluyen fragmentos de anticuerpo, tales como anticuerpos de cadena única (scFv's), que incluyen semillas de tabaco y tubérculos de papa. Ver, e.g., Conrad et al., Plant Mol. Biol. 38:101-109 (1998) y las referencias citadas en él. Así, los cuerpos miméticos, porciones especificadas y variantes de la presente invención también se pueden producir utilizando plantas transgénicas, de acuerdo con los

46

métodos conocidos. Ver también, e.g., Fischer et al., *Biotechnol. Appl., Biochem* 30: 99-108 (Oct., 1999), Ma et al., *Trends Biotechnol.* 13:522-7 (1995); Ma et al., *Plant Physiol.* 109 :341-6 (1995) ; Whitlam et al., *Biochem. Soc. Trans.* 22: 940-944 (1994); y las referencias citadas en él. Las referencias anteriores están
5 completamente incorporadas aquí por referencia.

Los cuerpos miméticos de la invención pueden unir ligandos de proteína humana con un amplio intervalo de afinidades (K_D). En una incorporación preferida, por lo menos un cuerpo mimético de EPO humana mimética CH1
10 suprimida de la presente invención opcionalmente puede unir por lo menos un ligando de proteína con alta afinidad. Por ejemplo, por lo menos un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida de la presente invención puede unirse por lo menos a un ligando de proteína con una K_D igual a o menor que cerca de 10^{-7} M, o más preferiblemente con una K_D igual a o menor que cerca de 0.1- 9.9
15 (o en cualquier intervalo o valor en él) $\times 10^{-7}, 10^{-8}, 10^{-9}, 10^{-10}, 10^{-11}, 10^{-12}$ o 10^{-13} M, o cualquier intervalo o valor en él.

La afinidad o avidéz de un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida para por lo menos un ligando de proteína se puede determinar
20 experimentalmente utilizando cualquier método adecuado, e.g., como se usa para determinar la afinidad o avidéz enlazante anticuerpo-antígeno. (Ver, por ejemplo Berzofsky, et al., "Antibody-Antigen Interaction," en *Fundamental Immunology*, Paul, W. E., Ed., Raven Press: New York NY (1984); Kuby, Janis *Immunology*,

45
47

W.H. Freeman and Company: New York, NY (1992); y los métodos descritos aquí). La medida de la afinidad de la interacción ligando-cuerpo mimético de un cuerpo mimético de una EPO mimética particular CH1 suprimida puede variar si se mide bajo condiciones diferentes (e.g., concentración de sal, pH). Entonces, las medidas de afinidad y otros parámetros de ligando-enlazante (e.g., K_D , K_A , K_d) se hacen preferiblemente con soluciones estandarizadas de cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida y ligando, y un amortiguador estandarizado tal como el amortiguador descrito aquí.

10 Moléculas de Ácido Nucleico

Utilizando la información proporcionada aquí, tal como las secuencias de nucleótido que codifican por lo menos 90-100% de los aminoácidos contiguos de por lo menos una de la SEQ ID NOS:1-42 así como también por lo menos una porción de un anticuerpo, en donde las secuencias anteriores están insertadas como las secuencias Pep de Fórmula (I) para proporcionar un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida de la presente invención, además comprende fragmentos especificados, variantes o secuencias de consenso de ellos, o un vector depositado que comprende por lo menos una de estas secuencias, una molécula de ácido nucleico de la presente invención que codifica por lo menos un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o porción especificada o variante se pueden obtener utilizando los métodos descritos aquí o como se conoce en el arte.

Las moléculas de ácido nucleico de la presente invención pueden estar en la forma de RNA, tales como mRNA, hnRNA, tRNA o cualquier otra forma, o en la forma de DNA que incluye pero no se limita a, cDNA y DNA genómico obtenido por clonación o producido sintéticamente o cualquier combinación de ellos. El DNA puede ser de hebra triple, hebra doble o hebra única, o cualquier combinación de ellas. Cualquier porción de por lo menos una hebra del DNA o RNA puede ser la hebra codificante, también se conoce como la hebra sentido, o puede ser la hebra que no codifica, también referida a la hebra antisentido.

10

Las moléculas aisladas de ácido nucleico de la presente invención pueden incluir moléculas de ácido nucleico que comprenden un entramado de lectura abierta (ORF), opcionalmente con uno o más intrones, moléculas de ácido nucleico que comprenden la secuencia codificante para un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o porción especificada o variante; y moléculas de ácido nucleico las cuales comprenden una secuencia de nucleótido sustancialmente diferentes de aquellas descritas antes pero las cuales, debido a la degeneración del código genético, aún codifican por lo menos un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida como aquí se describe y/o como se conoce en el arte. Por supuesto, el código genético es bien conocido en el arte. Así, sería la rutina de alguien versado en el arte para generar tales variantes de ácido nucleico degenerado que codifica para cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o

15

20

porción especificada o variantes de la presente invención. Ver, e.g., Ausubel, et al., *Supra*, y tales variantes de ácido nucleico se incluyen en la presente invención.

Como aquí se indica, las moléculas de ácido nucleico de la presente invención las cuales comprenden una molécula de ácido nucleico que codifica un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o porción especificada o variante puede incluir, pero no se limita a, aquellas que codifican la secuencia de aminoácido de un fragmento de cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida, por si misma; la secuencia que codifica para el cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida entero o una porción de el; la secuencia que codifica para un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida, fragmento o porción, así como también secuencias adicionales, tales como las secuencias que codifican de al menos una señal líder o péptido de fusión, con o sin las secuencias codificantes adicionales antes mencionadas, tal como al menos un intrón, junto con secuencias no codificantes adicionales, incluyendo pero no limitadas a, secuencias 5' y 3' no codificantes, tal como se transcribió, las secuencias no traducidas que juegan un papel en la transcripción, en el procesamiento de mRNA, incluyendo un ajuste y señales de poliadenilación (por ejemplo enlace de ribosoma y estabilidad de mRNA); una secuencia de codificación adicional que codifica para aminoácidos adicionales, tales como aquellos que proporcionan funcionalidades adicionales. Así, la secuencia que codifica un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o porción especificada o variante puede ser fundida a una secuencia de marca, tal como una secuencia que codifica un péptido que facilita la

44
50

purificación del cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida fusionado o porción especificada o variante que comprende un fragmento o porción de cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida.

5 Polinucleótidos que Hibridizan Selectivamente a un Polinucleótido como se Describe aquí

La presente invención proporciona ácidos nucleicos aislados que hibridizan bajo condiciones de hibridización selectiva a un polinucleótido divulgado aquí, u
10 otros divulgados aquí, incluyendo variantes especificadas o porciones de ellos. Así, los polinucleótidos de esta incorporación se puede utilizar para aislar, detectar y/o cuantificar ácidos nucleicos que comprenden tales polinucleótidos.

Las condiciones de hibridización de estrechez baja o moderada son
15 típicamente, pero no exclusivamente, empleadas con secuencias que tienen una identidad de secuencia reducida relativa a las secuencias complementarias. Las condiciones de estrechez moderada y alta pueden opcionalmente ser empleadas para secuencias de mayor identidad. Las condiciones de baja estrechez permiten hibridización selectiva de secuencias que tienen cerca de 40-99% de identidad de
20 secuencia y pueden ser empleadas para identificar secuencias ortólogas o parálogas.

Opcionalmente, los polinucleótidos de esta invención codificarán por lo menos una porción de un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o porción especificada o variante codificada por los polinucleótidos aquí descritos. Los polinucleótidos de esta invención abarcan secuencias de ácido nucleico que pueden ser empleadas para la hibridización selectiva para un polinucleótido que codifica un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o porción especificada o variante de la presente invención. Ver, e.g., Ausubel, supra; Colligan, supra, cada una aquí incorporada completamente por referencia.

10 Construcción de Ácidos Nucleicos

Los ácidos nucleicos aislados de la presente invención se pueden hacer utilizando (a) métodos recombinantes, (b) técnicas sintéticas, (c) técnicas de purificación, o combinaciones de ellas, como es bien conocido en el arte.

15

Los ácidos nucleicos pueden comprender convenientemente secuencias en adición a un polinucleótido de la presente invención. Por ejemplo, un sitio de multiclonación que comprende uno o más sitios de restricción de endonucleasa se pueden insertar en el ácido nucleico para ayudar en el aislamiento del polinucleótido. También, se pueden insertar secuencias traducibles para ayudar en el aislamiento del polinucleótido traducido de la presente invención. Por ejemplo, una secuencia de hexa-histidina marcada proporciona un medio conveniente para purificar las proteínas de la presente invención. El ácido nucleico de la presente

20

invención – excluyendo la secuencia codificada – es opcionalmente un vector, un adaptador o un ligante para clonación y/o expresión de un polinucleótido de la presente invención.

- 5 Secuencias adicionales se pueden adicionar a tales secuencias de clonación y/o expresión para optimizar su función en clonación y/o expresión, para ayudar en el aislamiento del polinucleótido, o mejorar la introducción del polinucleótido en una célula. El uso de vectores de clonación, vectores de expresión, adaptadores y ligantes es bien conocido en el arte. Ver, e.g., Ausubel, 10 *supra*; o Sambrook, *supra*.

Métodos Recombinantes para Construcción de Ácidos Nucleicos

- 15 Las composiciones de ácido nucleico aislado de esta invención, tal como RNA, cDNA, DNA genómico, o cualquier combinación de ellos, se puede obtener de fuentes biológicas utilizando cualquier numero de metodologías de clonación conocidas por aquellos versados en el arte. En algunas incorporaciones, sondas de oligonucleótido que selectivamente hibridizan, bajo condiciones de estrechez 20 adecuada, a los polinucleótidos de la presente invención son usadas para identificar la secuencia deseada en una biblioteca de cDNA o de DNA genómico. El aislamiento de RNA, y la construcción de cDNA y bibliotecas genómicas es bien

conocida por aquellos versados en el arte. (Ver, e.g., Ausubel, *supra*; o Sambrook, *supra*).

Métodos Sintéticos para Construcción de Ácidos Nucleicos

5

Los ácidos nucleicos aislados de la presente invención también pueden ser preparados por síntesis química directa mediante métodos conocidos (ver, e.g., Ausubel, et al., *supra*). La síntesis química generalmente produce un oligonucleótido de hebra única, el cual puede ser convertido en DNA de doble hebra por hibridización con una secuencia complementaria, o por polimerización con una DNA polimerasa utilizando la hebra única como una plantilla. Alguien versado en el arte reconocerá que mientras la síntesis química de DNA se puede limitar a secuencias de cerca de 100 o más bases, secuencias más largas se pueden obtener por la unión de secuencias más cortas.

10

15

Cintas de Expresión Recombinante

La presente invención proporciona además cintas de expresión recombinante que comprenden un ácido nucleico de la presente invención. Una secuencia de ácido nucleico de la presente invención, por ejemplo un cDNA o secuencia genómica que codifica un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida porción especificada o variante de la presente invención puede ser usada para construir una cinta de expresión recombinante que se pueda introducir

20

en por lo menos una célula huésped deseada. Una cinta de expresión recombinante típicamente comprenderá un polinucleótido de la presente invención unido operablemente a secuencias regulatorias de iniciación transcripcional que dirigirán la transcripción del polinucleótido en la célula huésped destinada. Ambos
5 promotores heterólogo y no heterólogo (i.e., endógenos), se pueden emplear para dirigir la expresión de los ácidos nucleicos de la presente invención.

En algunas incorporaciones los ácidos nucleicos que sirven como promotor, mejorador u otros elementos se pueden introducir en la posición apropiada
10 (corriente arriba, corriente abajo o en el intrón) de una forma no heteróloga de un polinucleótido de la presente invención hasta regular arriba o abajo la expresión de un polinucleótido de la presente invención. Por ejemplo, promotores endógenos se pueden alterar *in vivo* o *in vitro* por mutación, supresión y/o sustitución como se conoce en el arte. Un polinucleótido de la presente invención se puede expresar
15 ya sea en la orientación sentido o antisentido como se desee. Se apreciará que el control de la expresión del gen ya sea en la orientación sentido o antisentido puede tener un impacto directo sobre las características observables. Otro método de supresión es la supresión sentido. La introducción del ácido nucleico configurado en la orientación sentido ha mostrado ser un medio efectivo mediante
20 el cual se bloquea la transcripción de los genes blanco.

Vectores y Células Huésped

La presente invención también se relaciona con vectores que incluyen moléculas de ácido nucleico aislado de la presente invención, las células huésped que se obtienen por ingeniería genética con los vectores recombinantes, y la producción de por lo menos un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o porción especificada o variante por técnicas recombinantes como es bien conocido en el arte. Ver, e.g., Sambrook et al., supra; Ausubel, et al., supra, cada una incorporada aquí completamente por referencia.

10

Los polinucleótidos pueden estar unidos opcionalmente a un vector que contiene un marcador seleccionable para propagación en un huésped. Generalmente, un vector plásmido se introduce a la célula usando métodos adecuados conocidos, tal como electroporación y similares, otros métodos conocidos incluyen el uso de un vector como un precipitado, tal como fosfato de calcio precipitado, o en un complejo con un lípido cargado. Si el vector es un virus se puede empacar *in vitro* utilizando una línea de células empacadas apropiada y luego se transduce en las células huésped.

20

El inserto de DNA se debe unir operativamente a un promotor apropiado. La expresión del constructo además opcionalmente contendrá sitios para al menos la iniciación de la transcripción, terminación y, en la región transcripta, un sitio de unión de ribosoma para traducción. La porción que codifica de la expresión

transcripta madura por el constructo preferiblemente incluirá una iniciación de traducción en el codón de inicio y terminación (e.g., UAA, UGA, o UAG) posicionados apropiadamente al final del mRNA a ser traducido, con UAA y UAG preferidas para expresión de células eucarióticas o de mamífero.

5

Los vectores de expresión preferiblemente sin embargo opcionalmente incluirán por lo menos un marcador seleccionable. Tales marcadores incluyen, e.g., pero no limitados a, metotrexato (MTX), dihidrofolato reductasa (DHFR, Patentes U.S. Nos: 4, 399, 216; 4, 634, 665; 4, 656, 134; 4, 956, 288; 5,149, 636; 10 5, 179, 017), ampicilina, neomicina (G418), ácido micofenólico, o glutamina sintetasa (GS, Patentes U.S. Nos 5, 122, 464; 5, 770, 359; 5, 827, 739) resistencia para cultivo de células eucarióticas y genes de resistencia a la tetraciclina o ampicilina para cultivar en *E. Coli* y otras bacterias o procarióticas (en las Patentes anteriores están aquí incorporadas completamente por referencia), los 15 medios de cultivo y condiciones apropiadas para las células huésped descritas anteriormente son conocidos en el arte. Los vectores adecuados serán fácilmente claros para la persona versada en el arte. La introducción de un constructo vector en una célula huésped se puede efectuar por transfección de fosfato de calcio, transfección mediada por DEAE-Dextrano, transfección mediada por lípido 20 catiónico, electroporación, transducción, infección u otros métodos conocidos. Tales métodos están descritos en el arte, tal como Smabrook, supra, capítulos 1-4 y 16-18; Ausubel, supra, capítulos 1, 9,13, 15, 16.

Al menos un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o porción especificada o variante de la presente invención se puede expresar en una forma modificada, tal como una proteína de fusión, y puede incluir no solamente señales de secreción, sino también regiones funcionales heterólogas adicionales.

5 Por ejemplo, una región de aminoácidos adicional, particularmente aminoácidos cargados se puede adicionar al N-termino de un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o porción especificada o variante para mejorar la estabilidad y persistencia en la célula huésped, durante la purificación, o durante el subsiguiente manejo y almacenamiento. También las mitades péptido se pueden
10 adicionar a un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o porción especificada o variante de la presente invención para facilitar la purificación. Tales regiones se pueden remover antes del final de la preparación de un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o al menos un fragmento del mismo. Tales métodos están descritos en muchos manuales de laboratorio estándar, tal
15 como Sambrook, supra capítulos 17.29-17.42 y 18.1-18.74; Ausubel, supra, capítulos 16, 17 y 18.

Para aquellos versados en el arte son conocidos en los numerosos sistemas de expresión disponibles para expresión de un ácido nucleico que
20 codifican una proteína de la presente invención.

Cultivos de células ilustrativos útiles para la producción de cuerpos miméticos, porciones especificadas o variantes de los mismos, son células de

mamíferos. Los sistemas de células de mamíferos frecuentemente estarán en la forma de monocapas de células sin embargo también se pueden usar suspensiones de células de mamíferos o bioreactores. Un numero de líneas celulares huésped adecuadas capaces de expresar proteínas glicosiladas han sido desarrolladas en el arte e incluyen las líneas celulares COS-1 (e.g., ATCC CRL 1650), COS-7 (e.g., ATCC CRL-1651), HEK293, BHK21 (e.g., ATCC CRL-10), CHO (e.g., ATCC CRL 1610, DG-44) y BSC-1 (e.g., ATCC CRL-26), células hepG2, células P3X63Ag8653, SP2/0-Ag14, 293, células HeLa y similares, las cuales están fácilmente disponibles en, American Type Culture Collection, Manassas, Va. Las células huésped preferidas incluyen células de origen linfóide tales como células de mieloma y linfoma. Las células huésped preferidas particularmente son las células P3X63Ag8.653 (ATCC Número de Acceso CRL-1580) y células SP2/0-Ag14 (ATCC Número de Acceso CRL-1851).

Los vectores de expresión para estas células pueden incluir una o más de las siguientes secuencias control de expresión, tales como, pero no limitadas a un origen de replicación; un promotor (e.g., promotores tardíos o tempranos SV40), el promotor CMV (e.g., patentes U.S. Nos. 5, 168, 062; 5, 385, 839), un promotor HSV tk, un promotor pgk (fosfoglicerato quinasa), un promotor alfa EF-1 (e.g., patente U.S. No. 5, 266, 491), al menos un promotor de inmunoglobulina humana; un mejorador, y/o sitios de procesamiento de información, tales como sitios enlazantes de ribosoma, sitios de empalme de RNA, sitios de poliadenilación (e.g., un sitio de adición SV40 grande T Ag poli A), y

secuencias de terminación transcripcional. Ver, e.g., Ausubel et al., supra; Sambrook et al., supra. Otras células útiles para la producción de ácidos nucleicos o proteínas de la presente invención se conocen y/o están disponibles, por ejemplo en American Type Culture Collection Catalogue de líneas celulares e
5 hibridomas (www.atcc.org) u otras conocidas o fuentes comerciales.

Cuando se emplean células huésped eucarióticas, la poliadenilación o secuencias terminales de transcripción típicamente están incorporadas en el vector. Un ejemplo de una secuencia de terminación es la secuencia de
10 poliadenilación del gen de la hormona de crecimiento bovino. También se pueden incluir las secuencias para un empalme exacto del transcripto. Un ejemplo de una secuencia de empalme es el intrón VP1 de SV40 (Sprague, et al., J. Virol. 45: 773-781 (1983)). Adicionalmente, las secuencias del gen para controlar la replicación en la célula huésped se puede incorporar en el vector, como es conocido en el
15 arte.

Purificación de una porción de un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o variante del mismo

20 Un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o porción especificada o variante se puede recuperar y purificar de los cultivos de célula recombinante por los métodos bien conocidos que incluyen, pero no se limitan a, purificación de la proteína A, precipitación con sulfato de amonio o etanol,

extracción ácida, cromatografía de intercambio aniónico o catiónico, cromatografía en fosfocelulosa, cromatografía de interacción hidrofóbica, cromatografía de afinidad, cromatografía en hidroxilapatita y cromatografía en lectina. También se puede emplear para la purificación la cromatografía líquida de alta resolución 5 ("HPLC"). Ver, e.g., Colligan Current Protocols in Immunology, o Current Protocols in Protein Science, Willey & Sons, NY, NY (1997-2002), e.g., capítulos 1, 4, 6, 8, 9, 10, cada uno incorporado completamente aquí por referencia.

Los cuerpos miméticos o porciones especificadas o variantes de la presente 10 invención incluyen productos purificados naturalmente, productos de procedimientos químicos sintéticos, y productos producidos por técnicas recombinantes a partir de un huésped eucariótico, que incluye por ejemplo células de levadura, plantas superiores, insectos y mamíferos. Dependiendo del huésped que se emplee en un procedimiento de producción recombinante, el cuerpo 15 mimético de EPO mimética CH1 suprimida o porción especificada o variante de la presente invención puede ser glicosilado o puede ser monoglicosilado, siendo preferido el glicosilado. Tales métodos se describen en muchos manuales de laboratorio estándar, tales como Sambrook, supra, secciones 17.37-17.42; Ausubel, supra, Capítulos 10, 12, 13, 16, 18 y 20, Colligan Protein Science, supra, 20 capítulos 12-14, todos incorporados completamente aquí por referencia.

CUERPOS MIMÉTICOS, FRAGMENTOS ESPECIFICADOS Y/O VARIANTES

Los cuerpos miméticos aislados de la presente invención comprenden cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o porción especificada o
5 variante codificada por cualquiera de los polinucleótidos de la presente invención como se discute mas completamente aquí o cualquier aislado o preparado de cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o porción especificada o variante de los mismos.

10 Preferiblemente, el cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o porción enlazada al ligando o variante enlaza por lo menos un ligando o receptor de proteína EPO, y, por lo tanto proporciona actividad biológica EPO de la proteína correspondiente o un fragmento de la misma. Proteínas
15 significativamente diferentes terapéuticamente o diagnósticamente son bien conocidas en el arte y también se conocen en el arte ensayos adecuados o actividades biológicas de tales proteínas .

Ejemplos no limitantes de péptidos miméticos adecuados de EPO para esta invención, aparecen en la tabla 1 abajo. Estos péptidos se pueden preparar por
20 métodos divulgados y/o conocidos en el arte. En la mayoría de los casos se utilizan las abreviaturas de letra única de los aminoácidos. La X en estas secuencias (y a través de esta especificación, a menos que se especifique de otra manera en un ejemplo particular) significa que cualquiera de los residuos de

aminoácido conocidos o que ocurren naturalmente o derivados conocidos de ellos pueden estar presentes, o cualquier aminoácido modificado conocido de ellos. Cualquiera de estos péptidos puede estar ligado en tandem (i.e., secuencialmente) con o sin ligantes, y unos pocos ejemplos unidos en tandem se proporcionan en la

5 tabla. Los ligantes están listados como "Δ" y pueden ser cualquiera de los ligantes descritos aquí. El tandem se repite y los ligantes se muestran separadamente por líneas punteadas para claridad. Cualquier péptido que contiene un residuo cisteinil puede estar opcionalmente entrecruzado con otro péptido que contenga Cys, ya sea que uno o ambos pueda estar unido a un vehículo. Unos pocos ejemplos de

10 entrecruzamiento se proporcionan en la tabla. Cualquier péptido que tenga más de un residuo Cys puede formar un enlace disulfuro intrapéptido, ver por ejemplo los péptidos de EPO mimética en la tabla 1. Unos pocos ejemplos de péptidos enlazados por disulfuro intrapéptido están especificados en la tabla. Cualquiera de estos péptidos se puede derivatizar como se describe aquí, y unos pocos ejemplos

15 derivatizados se proporcionan en la tabla. Para derivados en los cuales el Carboxilo-termino puede ser cubierto con un grupo amino, el grupo amino que cubre se muestra como $-NH_2$. Para derivados en los cuales los residuos de aminoácido se sustituyen por mitades distintas de residuos de aminoácidos, las sustituciones se denotan por una δ , lo que significa que cualquiera de las mitades

20 se conoce en el arte, e.g., como se describe en Bhatnagar et al. (1996), J. Med. Chem. 39: 3814-9 y Cuthbertson et al. (1997), J. Med. Chem. 40 : 2876-82 que esta completamente incorporada por referencia. El sustituyente J y los

sustituyentes Z (Z₅ , Z₆... Z₄₀) son como se define en las Patentes U.S. Nos. 5, 608, 035, 5, 786, 331 y 5, 880, 096 que están enteramente incorporadas aquí por referencia. Para las secuencias EPO mimética (Tabla 1) los sustituyentes X₂ hasta X₁₁ y el entero "n" son como se define en WO 96/40772, las cuales se incorporan
5 completamente por referencia. Los residuos que aparecen en negrilla son D-aminoácidos, pero pueden ser opcionalmente L-aminoácidos. Todos los péptidos están unidos a través de enlaces péptidos a menos que se indique de otra manera. Las abreviaturas están listadas al final de estas especificación. En la columna "SEQ ID NO" "NR" significa que no se requiere listar la secuencia para la
10 secuencia dada.

	YXCXXGPXTWXCXP	1
	YXCXXGPXTWXCXP-YXCXXGPXTWXCXP	2
	YXCXXGPXTWXCXP-A-YXCXXGPXTWXCXP	3
15	YXCXXGPXTWXCXP-Δ-ε-amina)	4
	\	
	K	
	/	
	YXCXXGPXTWXCXP-Δ-(α-amina)	4
20	GGTYSCHFGPLTWVCKPQGG	5
	GGDYHCRMGPLTWVCKPLGG	6
	GGVYACRMGPITWVCSPLGG	7

	VGNYMCHFGPITWVCRPGGG	8
	GGLYLCRFGPVTWDCGYKGG	9
	GGTYSCHFGPLTWVCKPQGG-	10
	GGTYSCHFGPLTWVCKPQGG-Δ- GGTYSCHFGPLTWVCKPQGG	11
5	GGTYSCHFGPLTWVCKPQGGSSK	12
	GGTYSCHFGPLTWVCKPQGGSSK	13
	GGTYSCHFGPLTWVCKPQGGSSK	14
	GGTYSCHFGPLTWVCKPQGGSSK-Δ-GGTYSCHFGPLTWVCKPQGGSSK	
	GGTYSCHFGPLTWVCKPQGGSS-Δ-E-amina)	
10	\	
	K	
	/	
	GGTYSCHFGPLTWVCKPQGGSS-Δ-(α-amina)	15
	GGTYSCHFGPLTWVCKPQGGSSK(-Δ-biotina)	16
15	CX ₄ X ₅ GPX ₆ TWX ₇ C	17
	GGTYSCHGPLTWVCKPQGG	18
	VGNYMAHMGPIWVCRPGG	19
	GGPHHVYACRMGPLTWIC	20
	GGTYSCHFGPLTWVCKPQ	21
20	GGLYACHMGPMTWVCQPLRG	22
	TIAQYICYMGPETWECRPSPKA	23
	YSCHFGPLTWVCK	24

	YCHFGPLTWVC	25
	X ₃ X ₄ X ₅ GPX ₆ TWX ₇ X ₈	26
	YX ₂ X ₃ X ₄ X ₅ GPX ₆ TWX ₇ X ₈	27
	X ₁ YX ₂ X ₃ X ₄ X ₅ GPX ₆ X ₇ X ₈ X ₉ X ₁₀ X ₁₁	28
5	X ₁ YX ₂ CX ₄ X ₅ GPX ₆ TWX ₇ CX ₉ X ₁₀ X ₁₁	29
	GGLYLCRFGPVTWDCGYKGG	30
	GGTYSCHFGPLTWVCKPQGG	31
	GGDYHCRMGPLTWVCKPLGG	32
	VGNYMCHFGPITWVCRPGGG	33
10	GGVYACRMGPITWVCSPLGG	34
	VGNYMAHMGPIWVCRPGG	35
	GGTYSCHFGPLTWVCKPQ	36
	GGLYACHMGPMT%AIVCQPLRG	37
	TIAQYICYMGPETWECRPSPKA	38
15	YSCHFGPLTWVCK	39
	YCHFGPLTWVC	40
	SCHFGPLTWVCK	41
	(AX ₂) _n X ₃ X ₄ X ₅ GPX ₆ TWX ₇ X ₈	42

20 Las actividades biológicas EPO son bien conocidas en el arte. Ver, e.g., Anagnostou A et al La eritropoyetina tiene un efecto mitogénico y quimiotáctico positivo sobre las células endoteliales. Proceedings of the National Academy of Science (USA) 87:5978-82 (1990); Fandrey J. and Jelkman WE La Interleuquina 1

y la producción in vitro de eritropoyetina que inhibe el factor alfa de necrosis tumoral. *Annals of the New York Academy of Science* 628:250-5 (1991); Geisler K. et al Eritropoyetina humana recombinante: un factor de crecimiento hemopoyetico multipotencial in vivo e in vitro. *Contrib. Nephrol.* 87:1-10 (1990); Gregory CJ La

5 sensibilidad de la Eritropoyetina como un marcador de diferenciación en sistemas hematopoyéticos. Estudios de la respuesta de tres colonias eritropoyéticas en cultivo. *Journal of Cellular Physiology* 89:289-301 (1976); Jelkman W et al, Monoquinas que inhiben la producción de eritropoyetina en cultivos de hepatoma humano y en riñones aislados de ratas perfundidas. *Life Sci.* 50:301-8 (1992);

10 Kimata H et al La eritropoyetina humana recombinante estimula directamente la producción de inmunoglobulina en las células B y la proliferación en un medio libre de suero. *Clinical and Experimental Immunology* 85:151-6 (1991); Kimata H et al La Eritropoyetina mejora la producción de inmunoglobulina y la proliferación por células de plasma humano en un medio libre de suero. *Clin. Immunology*

15 *Immunopathol.* 59:495-501 (1991); Kimata H et al Efecto de la eritropoyetina humana recombinante sobre la producción in vitro de IgE humana. *Clinical and Experimental Immunology* 83:483-7 (1991); koury MJ and Bondurant MC La eritropoyetina retarda la ruptura del DNA y previene las muerte celular programada en células progenitoras eritroides. *Science* 248:378-8 (1990); Lim VS et al Efecto

20 de eritropoyetina humana recombinante sobre la función renal en humanos. *Kidney International* 37:131-6 (1990); Mitjavila MT et al Estimulación autocrina por eritropoyetina y crecimiento autónomo de células de leucemia eritroide humana in vitro. *Journal of Clinical Investigation* 88:789-97 (1991); Andre M et al Realización

de un ensayo inmunoradiométrico de eritropoyetina y resultados para
especímenes de pacientes anémicos y policitémicos. *Clinical Chemistry* 38:758-63
(1992); Hankins WD et al Líneas celulares que dependen de eritropoyetina y que
producen eritropoyetina. Implications for research and for leukemia therapy.
5 *Annals of the New York Academy of Science* 554:21-8 (1989); Kendall RGT et al
Almacenamiento y preparación de muestras para radioinmunoanálisis de
eritropoyetina. *Clin. Lab. Haematology* 13:189-96 (1991); Krumvieh D et al
Comparación de ensayos biológicos relevantes para la determinación de
eritropoyetina activa biológicamente. *Dev. Biol. Stand.* 69:15-22 (1988); Ma DD et
10 al Evaluación de un EIA para medir eritropoyetina en suero humano como
comparada con RIA y un bioensayo in vitro, *British Journal of Haematology* 80:
431-6 (1992); Noe G et al. Un emparejado sensible ELISA para la medición de
eritropoyetina en suero humano *British Journal of Haematology* 80: 285-92 (1992);
Pauly JU et al, inmunoensayos de enzimas altamente específico y altamente
15 selectivos y altamente sensibles para anticuerpos interleukina 3 (IL3) humanos y
eritropoyetina humana (EPO) en suero *Behring Institut Mitteiluged* 90:112-25
(1991); Sakatas and Enoki y mejoró un microbioensayo para eritropoyetina en
plasma basada en formación de colonias CFU-E. *Ann. Hematology* 64: 224-30
(1992); Sanengen T. et al Eritropoyetina inmunoreactiva y factor(s) de
20 estimulación de eritropoyesis en plasma desde neonatos hipertransfundidos y
ratón adulto. Los estudios con un radiomunoensayo y un ensayo de cultivo de
células para eritropoyetina. *Acta Physiol. Scand* 135: 11-6 (1989); Widness JA et
al. Un ensayo de inmunoprecipitación de eritropoyetina específico y sensible:

aplicación a los estudios farmacocinéticos. Journal of Lab. Clin. Medi. 119: 285-94 (1992); para información adicional vea también las líneas de células individuales usadas en bioensayos individuales. Cada una de las referencias anteriores están incorporadas enteramente aquí por referencia. El EPO se puede ensayar
5 empleando líneas de células tales como HCD57, NFS-60, TF-1 y UT-7, las cuales responden al factor. La actividad EPO se puede evaluar también en un ensayo de formación de colonias determinando el número de CFU-E de células de Médula ósea. Un método de detección enteramente diferente y alternativo es la cuantificación por RT-PCR de citoquinas.

10

Un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida, o porción especificada o variante de las mismas, proporciona preferiblemente sustancialmente o parcialmente al menos a actividad biológica de al menos de una proteína o fragmento, puede enlazarse la proteína o el ligando del fragmento y
15 entonces proporcionar al menos una actividad que es mediada de otra manera a través del enlace de la proteína a por lo menos un ligando de proteína o receptor o a través de otra proteína-dependiente o mecanismos mediados. Como se usa aquí, el término "actividad de cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida" se refiere a un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida que puede
20 modular o causar al menos una actividad dependiente de la proteína de cerca de 20-10,000% preferiblemente por lo menos cerca de 60, 70, 80, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 97, 98, 99, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 250, 300,

350, 400, 450, 500, 550, 600, 700, 800, 900, 1000, 2000, 3000, 4000, 5000, 6000, 7000, 8000, 9000 % o más dependiendo del ensayo.

La capacidad de un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o
5 porción especificada o variante para proporcionar al menos una actividad
dependiente de la proteína, se evalúa preferentemente por al menos un ensayo
biológico de una proteína adecuada, como se describe aquí y/o como se conoce
en el arte. Un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida humana o una
porción especificada o variante de la invención puede ser similar para cualquier
10 clase (IgG, IgA, IgN, etc.) o isotipo y puede comprender al menos una cadena
ligera de Kappa o Lambda. En una incorporación, el cuerpo mimético de EPO
mimética CH1 suprimida o porción especificada o variante comprende un
fragmento variable de cadena pesada IgG, una región de giro CH2 y CH3 por
ejemplo al menos uno de los isotipos, IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4.

15

Al menos un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o porción
especificada o variante de la invención une por lo menos un ligando específico
especificado a por lo menos una proteína, subunidad, fragmento, porción o
cualquier combinación de ellos. Al menos un péptido de EPO mimética de por lo
20 menos un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida, porción especificada
o variante de la presente invención se puede enlazar opcionalmente al menos a un
epitopo ligando especificado del ligando. La unión epítipo puede comprender
cualquier combinación de por lo menos una secuencia de aminoácidos de al

menos 1-3 aminoácidos a la porción especificada entera de los aminoácidos contiguos de las secuencias seleccionadas del grupo que consiste de un ligando de proteína, tal como un receptor EPO o una porción de los mismos.

5 Tales cuerpos miméticos se pueden preparar uniendo juntos las varias porciones de la Fórmula (I) del cuerpo mimético de la EPO mimética CH1 suprimida utilizando técnicas conocidas, preparando y expresando al menos uno (i. e. uno o más) moléculas de ácido nucleico que codifican el cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida, utilizando técnicas conocidas de la tecnología de
10 DNA recombinante o utilizando cualquier otro método adecuado, tal como síntesis química.

Los cuerpos miméticos que se enlazan a ligandos de proteínas humanos o receptores y esos que comprenden una región variable de cadena ligera o pesada
15 definidas, se puede preparar utilizando métodos adecuados, tales como exhibición de fago (Katsube, Y., et al, *Int J Mol. Med*, 1 (5): 863-868 (1998)) o métodos que emplean animales transgénicos, como se conocen en el arte y/o como se describen aquí. El cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida, porción especificada o variante, se puede expresar utilizando ácido nucleico codificado o
20 porción de ellos, en una célula huésped adecuada.

Preferiblemente, tales cuerpos miméticos o fragmentos de ellos que se unen al ligando, pueden unirse a ligandos EPO humanos o receptores con alta

afinidad (e. g., K_D menos que o igual a cerca de 10^{-7} M). Las secuencias de aminoácidos que son sustancialmente las mismas como se describen las secuencias aquí, incluyen secuencias que comprenden sustituciones conservativas de aminoácidos, como también supresiones de aminoácidos y/o inserciones. Una sustitución conservativa de aminoácidos se refiere al reemplazo de un primer aminoácido por un segundo aminoácido que tiene propiedades físicas y/o químicas (e. g., carga, estructura, polaridad, Hidrofobicidad / hidrofiliabilidad) que son similares a aquellas del primer aminoácido. Sustituciones conservativas incluye reemplazo de un aminoácido por otro en los siguientes grupos: lisina (K), arginina (R) e histidina (H); aspartato (D) y glutamato (E); asparagina (N), glutamina (Q), serina (S), treonina (T), tirosina (Y), K, R, H, D, y E; alalina (A), valina (V), leucina (L), isoleucina (I), prolina (P), fenilalanina (F), triptófano (W), metionina (M), cisterna (C), y glicina (G); F, W, y Y; C, S, y T.

Códigos de Aminoácidos

Los aminoácidos para hacer los cuerpos miméticos o porciones especificadas o variantes de la presente invención, generalmente se abrevian.

Las designaciones de los aminoácidos se pueden indicar por la designación del aminoácido por su código de letra sencilla, nombre, o 3 codón(s) nucleótido como bien se entiende en el arte (ver Alberts, B, et al., Molecular Biology of The Cell, Third Ed., Garland Publishing Inc., New York, 1994):

Código de letra única	Código de tres letras	Nombre	Codon(s) de tres nucleótido(s)
A	Ala	Alanina	GCA, GCC, GCG, GCU
C	Cys	Cisteina	UGC, UGU
D	Asp	Ácido aspartico	GAC, GAU
E	Glu	Ácido Glutámico	GAA, GAG
F	Phe	Fenilalanina	UUC, UUU
G	Gly	Glicina	GGA, GGC, GGG, GGU
H	His	Histidina	CAC, CAU
I	Ile	Isoleucina	AUA, AUC, AUU
K	Lys	Lisina	AAA, AAG
L	Leu	Leucina	UUA, UUG, CUA, CUC, CUG, CUU
M	Met	Metionina	AUG
N	Asn	Asparagina	AAC, AAU
P	Pro	Prolina	CCA, CCC, CCG, CCU
Q	Gln	Glutamina	CAA, CAG
R	Arg	Arginina	AGA, AGG, CGA, CGC, CGG, CGU
S	Ser	Serina	AGC, AGU, UCA, UCC, UCG, UCU

21
73

T	Thr	Treonina	ACA, ACC, ACG, ACU
V	Val	Valina	GUA, GUC, GUG, GUU
W	Trp	Triptófano	UGG
Y	Tyr	Tirosina	UAC, UAU

Un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o porción especificado o
variada de la presente invención puede incluir uno o más sustituciones de
aminoácidos, supresiones o adiciones ya sea de mutaciones naturales o
5 manipulación humana, como se especifica aquí.

Desde luego, el número de sustituciones de aminoácidos para una persona
versada en el arte, deberá depender muchos factores incluyendo aquellos
descritos anteriormente. Generalmente hablando, el número de sustituciones de
10 aminoácidos, inserciones o supresiones de por lo menos cuerpo mimético de EPO
mimética CH1 suprimida no será más de 40, 30, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12,
11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1 aminoácidos, tales como 1-30 o cualquier rango o
valor entre ellos, como se especifica aquí.

15 Los aminoácidos en un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o
porción especificado o variante de la presente invención, son esencialmente para
la función que se puede identificar por métodos conocidos en el arte, tal como
mutagénesis sitio-dirigida o mutagénesis de tamizado de alanina (e. g. Ausubel,

supra, Capítulos 8, 15; Cunningham y Wells, Science 244: 1081-1085 (1989)). El último procedimiento introduce mutaciones simples de alanina en cada residuo en la molécula. Las moléculas mutantes resultantes, se ensayan para la actividad biológica, tal como, pero no limitadas por lo menos la actividad relacionada con una proteína, como se especifica aquí o como se conoce en el arte. Los sitios que son críticos para el cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o porción especificado o variante unidas, se puede identificar también por análisis estructural tales como cristalización, resonancia magnética o marcación de foto-afinidad (Smith, et al., J Mol. Biol. 224:899-904(1992) de Vos, et al., Science 255:306-612(1992)

Los cuerpos miméticos o porciones especificadas o variantes de la presente invención, pueden comprender la porción Pep de la Fórmula (I), pero no está limitado a por lo menos una porción, secuencia o combinación seleccionada desde 3 a todo de por lo menos una de SEQ ID NOS: 1-42. Variantes no limitantes que pueden mejorar o mantener por lo menos una de las actividades listadas antes incluyen, pero no se limitan a cualquiera de los polipéptidos anteriores, además comprenden por lo menos una mutación correspondiente a por lo menos una sustitución, inserción o supresión que no afecta significativamente las actividades biológicas adecuadas o funciones de dicho cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida.

Un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o porción especificado o variante puede además comprender opcionalmente al menos una porción funcional de por lo menos un polipéptido como porción Pep de Fórmula (I) al menos uno de 90-100% de SEQ ID NOS: 1-42. Un cuerpo mimético de EPO
5 mimética CH1 suprimida puede opcionalmente además comprender una secuencia de aminoácidos para la porción Pep de la Fórmula (I), seleccionada de uno o más de SEQ ID NOS: 1-42.

En una incorporación, la secuencia de aminoácidos Pep, o porción de ellos,
10 tiene una identidad (cercana 90-100% (i.e., 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100 o cualquier intervalo o valor de ellos) a la correspondiente secuencia de aminoácidos de la porción correspondiente de por lo menos uno de SEQ ID NOS: 1-42. Preferiblemente, una identidad de aminoácidos 90-100% ((i.e., 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100 o cualquier rango o cualquier valor de ellos), se
15 determina utilizando un algoritmo adecuado de computador, como se conoce en el arte.

Los cuerpos miméticos o porciones especificadas o variantes de la presente invención, pueden comprender cualquier número de residuos de aminoácidos
20 contiguos desde un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o porción especificado o variante de la presente invención, donde este número se selecciona de un grupo de enteros que consiste desde 10-100% del número de residuos contiguos en un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida.

Opcionalmente, esta secuencia de aminoácidos contiguos es de por lo menos cerca de 2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19,20,21,22,23,24,25,26,27,28,29,30,40,50,60,70,80,90,100,720,730,140,150,160,,170,180,190,200,210, 220,230,240,250 o más aminoácidos en longitud, o cualquier intervalo o valor de ellos. Además, el número de tales secuencias, puede ser un entero seleccionado de un grupo que consiste de 1 a 20, y por lo menos 2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19,20 , o más.

Como aquellos versados apreciarán, la presente invención incluye por lo menos de un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida biológicamente activo o porción especificada o variante de la presente invención. Los cuerpos miméticos biológicamente activos o porciones especificadas o variantes, tienen una actividad específica de por lo menos 20%, 30% o 40%, y preferiblemente al menos 50%, 60%, o 70%, y más preferiblemente al menos 80%, 90% o 95%-100% del nativo (no sintético), endógeno o relacionada e insertado conocido o proteína fusionada o porción especificada o variante. Los métodos de ensayo y medidas de cuantificación de la actividad enzimática y especificidad del sustrato, son bien conocidas por aquellos versados en el arte.

En otro aspecto, la invención relaciona los cuerpos miméticos humanos y fragmentos de unión de ligando, como se escribe aquí, los que se modifican por unión covalente de una mitad orgánica. Tal modificación puede producir un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o fragmento unido al ligando

con mejoramiento de las propiedades farmacocinéticas (e. g. aumento del tiempo de vida media *in vivo* del suero). La mitad orgánica puede ser un grupo polimérico hidrofílico ramificado o lineal, grupo de ácidos grasos, o grupo de ésteres de ácidos grasos. En incorporaciones particulares, el grupo polimérico hidrofílico, puede tener un peso molecular de cerca de 800 hasta cerca de 120.000 Daltons y puede ser un glicol polialcano (e. g. polietilenglicol (PEG), propilenglicol (PPG)), polímero carbohidrato, polímero aminoácido o polivinil pirrolidona, y el grupo de éster de ácido graso o ácido graso puede comprender desde cerca de ocho hasta cerca de cuarenta átomos de carbono.

10

Los cuerpos miméticos modificados y los fragmentos de unión del ligando de la invención, pueden comprender uno o más mitades orgánicas que están enlazados covalentemente, directa o indirectamente, al cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o porción especificada o variante. Cada medio orgánico que está enlazado a un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o fragmento unido al ligando de la invención, puede ser independiente un grupo polimérico hidrofílico, un grupo de ácido graso o un grupo de éster de ácido graso. Como se usa aquí, el término "ácido graso" abarca ácidos monocarboxílicos y ácidos dicarboxílicos. Un "grupo hidrofílico polimérico" como el término que se usa aquí, se refiere a un polímero orgánico que es más soluble en agua que en octano. Por ejemplo, la polilisina es más soluble en agua que en octano. Por lo tanto, hubo un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida modificada por una unión covalente de polilisina, está abarcada por la invención. Los polímeros

15

20

70
78

hidrofílicos adecuados para cuerpos miméticos modificados de la invención, pueden ser lineales o ramificados e incluyen, por ejemplo, polialcanos glicoles (e. g. PEG, monoetoxi-polietileno glicol (mPEG), PPG y similares), carbohidratos (e. g., dextrano, celulosa, oligosacáridos, polisacáridos y similares), polímeros de aminoácidos hidrofílicos (e. g., polilisina, poliarginina, poliaspartato y similares), óxidos de polialcano (e. g., polietileno óxido, polipropileno óxido y similares) y polivinil pirrolidona. Preferiblemente el polímero hidrofílico que modifica que el cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida de la invención, tiene un peso molecular de cerca de 800 a cerca de 150.000 Daltons, como entidad molecular separada. Por ejemplo, PEG₂₅₀₀, PEG₅₀₀₀, PEG₇₅₀₀, PEG₉₀₀₀, PEG₁₀₀₀ PRG₁₂₅₀₀₀ AND PEG_{20.000} donde el subscrito es el peso molecular promedio del polímero en Daltons que se puede utilizar.

El grupo polimérico hidrofílico se puede sustituir con uno a cerca de seis alquilos o grupos de ésteres de ácidos grasos o ácidos grasos. Los polímeros hidrofílicos que se sustituyen con grupos de ésteres de ácidos grasos o ácidos grasos, se pueden preparar empleando métodos adecuados. Por ejemplo, un polímero que comprende un grupo amino, se puede acoplar al carboxilato del ácido graso o del éster del ácido graso y un carboxilato activado (e. g., activado con N,N-carbonil diimidazol) sobre un ácido graso o un éster de ácido graso se puede acoplar a un grupo hidroxilo sobre un polímero.

Los ácidos grasos y los ésteres de ácidos grasos adecuados para modificar los cuerpos miméticos de la invención, pueden ser saturados o pueden contener una o más unidades de insaturación. Los ácidos grasos que son adecuados para la modificación de cuerpos miméticos de la invención incluyen, por ejemplo, n-dodecanoato (C₁₂, laurato), n-tetradecanoato (C₁₄, miristato), n-octadecanoato (C₁₈, estearato), n-eicosanoato (C₂₀, araquidato), n-docosanoato (C₂₂, behenato), n-triacontanoato (C₃₀), n-tetracontanoato (C₄₀), cis-Δ⁹-octadecanoato (C₁₈, oleato), todos los cis-Δ^{5,8,11,14}-eicosatetraenoato (C₂₀, araquidonato), ácido octanodioico, ácido tetra decanodioico, ácido octadecanodioico, ácido docosanodioico, y similares. Ésteres de ácidos adecuados, incluyen monoésteres de ácidos dicarboxílicos que comprenden grupos alquílicos pequeños lineales o ramificados, el grupo alquílico pequeño puede comprender desde uno hasta cerca de doce, preferiblemente de uno a seis átomos de carbono.

Los cuerpos miméticos modificados humanos y los fragmentos de unión al ligando, se pueden preparar utilizando métodos adecuados, tales como reacción con uno o más agentes modificantes. Un "agente modificante" como el término que se usa aquí, se refiere a un grupo orgánico adecuado (e. g., un polímero hidrofílico, un ácido graso, un éster de ácido graso) que comprende un agente activador. Un "grupo activador", es un medio químico o grupo funcional que puede, bajo condiciones apropiadas, reaccionar con un segundo grupo químico y formar entonces, un grupo covalente entre el agente modificador y el segundo

grupo químico. Por ejemplo, grupos activadores aminoreactivos incluyen grupos electrofílicos como tosilato, mesilato, halo (cloro, bromo, flúor, yodo), N-hidroxisuccinidimil maleimida, yodoacetil, acrilolil, piridil disulfuros, ácido 5-tiol-2-nitrobenzoico tiol (TNB-tiol) y similares. Un grupo funcional aldehído se puede

5 acoplar a moléculas que contienen amina o hidrazida, un grupo azida puede reaccionar con un grupo fósforo trivalente para formar fosforamidato o uniones fosforimida. Métodos adecuados para introducir grupos activadores en moléculas se conocen en el arte (ver por ejemplo, Hermanson, G T., Bioconjugate techniques, academic press: San Diego CA (1996). Un grupo activador se puede

10 enlazar directamente al grupo orgánico (e.g., polímero hidrofílico, ácido graso, Ester de ácido graso), o a través de un medio de unión, por ejemplo un grupo divalente C_1-C_{12} donde uno o mas átomos de carbono se pueden remplazar por un heteroátomo tal como oxígeno, nitrógeno o azufre. Medios de unión adecuados incluyen por ejemplo, tetraetilenglicol, $-(CH_2)_3-$, $-NH-(CH_2)_6-NH-$, $-(CH_2)_2-NH-$ y $-CH_2-O-CH_2-CH_2-O-CH_2-CH_2-O-CH-NH-$. Agentes modificadores que comprenden

15 un medio de unión se pueden producir, por ejemplo por reacción de mono-Boc-Alquildiamina (e.g., mono-Boc-etilendiamina, mono-Boc-diaminohexano) con un ácido graso en la presencia de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) carbodiimina (EDC) para formar un enlace amida entre la amina libre y el carboxilato de ácido graso. El

20 grupo protector Boc se puede remover del producto por tratamiento con ácido trifluoroacético (TFA), para exponer una amina primaria que se puede acoplar a otro carboxilato como se describe, o puede reaccionar con anhídrido maléico resultando un producto ciclizado para producir un derivado maleimido activado del

ácido graso (ver por ejemplo, Thompson, *et al*, WO 92/18221 las enseñanzas completas las cuales se incorporan aquí por referencia).

Los cuerpos miméticos modificados de la invención se pueden producir por
5 reacción de cuerpos miméticos de EPO mimética CH1 suprimida o fragmento de
unión de ligando con un agente modificador. Por ejemplo, los medios orgánicos se
pueden enlazar al cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida de una
manera no específica para el sitio empleando un agente modificador amino-
reactivo, por ejemplo un Ester NHS de PEG. Los cuerpos miméticos humanos
10 modificados o fragmentos de unión de ligando se pueden preparar por reducción
de enlaces disulfuro (e.g., enlaces de disulfuro entre la cadena) de un cuerpo
mimético de EPO mimética CH1 suprimida o un fragmento de unión de ligando. El
cuerpo mimético reducido de EPO mimética de CH1 suprimida o el fragmento de
unión de ligando puede entonces hacerse reaccionar con un agente modificador
15 tiol-reactivo para producir el cuerpo modificado mimético de EPO mimética CH1
suprimida de la invención. Los cuerpos miméticos modificados humanos y los
fragmentos de unión de ligando comprenden un medio orgánico que esta enlazado
a sitios específicos de un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o una
porción especificada o variante de la presente dimensión puede ser preparada
20 utilizando métodos adecuados, tal como una proteólisis. ((Fisch et al.,
Bioconjugate Chem., 3:147-153 (1992) et al., Bioconjugate Chem., 5:411-417
(1994);kumaran et al., Protein Sci 6(10):2233-2241 (1997); Itoh et al.,
Bioorg.Chem.,24(1): 59-68 (1996);Capellas et al., Bioeng., 56(4):456- 463(1997), y

los métodos descritos en Hermanson, G. T., *Bioconjugate Techniques*, Academia Press: San Diego, C.A. (1996).

COMPOSICIONES DE CUERPO MIMÉTICO DE EPO MIMÉTICA CH1

5 SUPRIMIDA

La presente invención también proporciona por lo menos un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o porción especificada o composición variante que comprende por lo menos uno, por lo menos dos, por lo menos tres,
10 por lo menos cuatro, por lo menos cinco, por lo menos seis o mas cuerpos miméticos o porciones especificadas o variantes de ellas, como se describe aquí y/o como se conoce en el arte que son proporcionadas en una composición que no ocurre naturalmente, mezcla o forma. Tales porcentajes de composición son en peso, volumen, concentración, molaridad o molalidad como liquido o soluciones
15 secas, mezclas, suspensión, emulsiones o coloides, como se conocen en el arte o como se describen aquí.

Tales composiciones pueden comprender 0.00001-99.9999 por ciento en peso, en volumen, concentración, molaridad, o molalidad como liquido, gas, o
20 soluciones secas, mezclas, suspensión, emulsiones o coloides, como se conoce en el arte o como se escribe aquí, o en cualquier intervalo o valor tales como pero no limitados a 0.00001, 0.00003, 0.00005, 0.0001, 0.0003, 0.0005, 0.0009, 0.001, 0.003, 0.005, 0.009, 0.01, 0.02, 0.03, 0.05, 0.09, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8,

0.9, 1.0, 1.1, 1.2, 1.3, 1.4, 1.5, 1.6, 1.7, 1.8, 1.9, 1.9, 2.0, 2.1, 2.2, 2.3, 2.4, 2.5, 2.6, 2.7, 2.8, 2.9, 3.0, 3.1, 3.2, 3.3, 3.4, 3.5, 3.6, 3.7, 3.8, 3.9, 4.0, 4.1, 4.2, 4.3, 4.4, 4.5, 4.6, 4.7, 4.8, 4.9, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60 65, 70, 71, 72 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79 , 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 5 94, 95, 96, 97, 98, 99.1 99.2, 99.3, 99.4, 99.5, 99.6, 99.7, 99.8, 99.9% . tales composiciones de la presente invención incluyen entonces pero no se limitan a 0.00001-100 mg/ml y/o 0.00001-100 mg/g.

La composición puede opcionalmente además comprender una cantidad
10 efectiva de por lo menos un compuesto o proteína seleccionada de por lo menos un medicamento anti-infeccioso, un medicamento del sistema cardiovascular (CV), un medicamento del sistema nervioso central (CNS), un medicamento del sistema nervioso autónomo (SNA), un medicamento del tracto respiratorio, un medicamento del tracto gastrointestinal (GI), un medicamento hormonal, un
15 medicamento para fluidos o balance electrolítico, un medicamento hematológico, uno anti-neoplásico, un medicamento de inmunomodulación, un oftálmico, medicamento ótico o nasal, un medicamento tópico, un medicamento nutricional o similares. Tales medicamentos son bien conocidos en el arte, incluyendo formulaciones, indicaciones, dosificación y administración para cada uno de los
20 presentados aquí (ver; e.g., Nursing 2001 Handbook of Drugs, 21st Edition, Springhouse corp., Springhouse, PA, 2011; Health Professional's Drug Guide 2001, ed., Shannon. Wilson Stang, Prentice-Hall, Inc. Upper Saddle River, NJ; Pharmacotherapy Handbook; Wells et al., ed., Appleton & Lange, Stanford, CT,

cada uno completamente incorporado aquí por referencia). El medicamento anti-infeccioso puede ser por lo menos uno seleccionado de amebicidas o por lo menos uno antiprotozoos, antihelmíntico, antimicóticos, antimalaria, antituberculosis o al menos uno antileproso, aminoglicósidos, penicilinas, cefalosporinas, tetraciclinas, sulfonamidas, fluoroquinolonas, antivirales, anti-infecciosos macrólidos, anti-infecciosos misceláneos. El medicamento CV puede ser por lo menos uno seleccionado de inotrópico, antiarrítmico, antiangina, antihipertensivos, antilipémicos, medicamentos misceláneos cardiovasculares. El medicamento del CNS puede ser por lo menos uno seleccionado de analgésicos no narcóticos o por lo menos uno seleccionado de antipiréticos, medicamentos anti-inflamatorios no esteroides, narcóticos o por lo menos un analgésico opioide, hipnótico-sedativo, anticonvulsionante, antidepresivos, medicamentos antiansiedad, antisicóticos, estimulantes del sistema nervioso central, antiparkinsonianos, medicamentos del sistema nervioso central misceláneo el medicamento ANS puede ser por lo menos uno seleccionado de colinérgico (parasimpaticomiméticos), anticolinérgico, adrenérgicos (simpaticomiméticos), bloqueadores adrenérgicos (simpatolíticos), relajantes del músculo esquelético, bloqueadores neuromusculares. El medicamento del tracto respiratorio puede ser al menos uno seleccionado de antihistaminas, broncodilatadores, expectorantes o por lo menos uno de los antitusivos, medicamentos respiratorios misceláneos. El medicamento del tracto GI puede ser por lo menos uno seleccionado de antiácidos o por lo menos uno de los adsorbentes o por lo menos uno de los antiflatulentos, enzimas digestivas o por lo menos uno de los solubilizadores de cálculos biliares,

antidiarreícos, laxantes, antieméticos, medicamentos anti-ulcerosos. El medicamento hormonal puede ser por lo menos uno seleccionado de corticosteroides, andrógenos o por lo menos uno de los esteroide anabólicos, estrógenos o por lo menos uno de progestinas, gonadotropina, medicamentos

5 antidiabéticos o por lo menos uno glucagón, hormona tiroidea, antagonistas de la hormona tiroidea , hormonas de la pituitaria, medicamentos como los paratifoideos, el medicamento para fluido y balance electrolítico puede ser por lo menos uno seleccionado de diuréticos, electrolitos o al menos una de las soluciones de reemplazo, acidificantes o al menos uno de los alcalinizantes. El

10 medicamento hematológico puede ser al menos uno seleccionado de hematínicos, anticoagulantes, derivados de la sangre, enzimas trombolíticas. Los antineoplásicos puede ser por lo menos uno seleccionados de medicamentos alquilantes, antimetabólicos, antineoplásicos antibióticos, antineoplásicos que alteran el balance hormonal, antineoplásicos misceláneos. El medicamento de

15 inmunomodulación puede ser por lo menos uno seleccionado de inmunodepresivos, vacunas o por lo menos uno de los toxoides, antitoxinas o al menos antivaricosos, inmune a los sueros, modificadores de la respuesta biológica. Los medicamentos oftálmico, ótico y nasal puede ser al menos uno de ellos seleccionado de anti-infecciosos oftálmicos, anti-inflamatorios oftálmicos,

20 mióticos, midriáticos, vasoconstrictores oftálmicos, oftálmicos misceláneos, óticos y medicamentos nasales. El medicamento tópico puede ser por lo menos uno seleccionado de anti-infecciosos locales, escabicidas o por lo menos pediculicidas, corticoides tópicos. El medicamento nutricional puede ser al menos uno

seleccionado de vitaminas, minerales o calóricos. Ver, e.g. contenido de *Nursing 2001 Drug Handbook, supra*.

Por lo menos un amebicida o antiprotozoario se puede seleccionar de
5 atovacuona clorhidrato de cloroquina, fosfato de cloroquina, metronidazol,
clorhidrato de metronidazol, isetionato de pentamidina. Por lo menos un
antihelmíntico que puede ser seleccionado de mebendazol, pamoato de pirantelo,
tiabendazol. Al menos un antifúngico puede ser al menos seleccionado de
anfotericina B, complejo anfotericina B colesteryl sulfato, complejo anfotericina B
10 lípido, anfotericina B liposomal, fluconazol, flucitosina, griseofulvina microtamafio,
griseofulvina ultramicrotamafio, itraconazol, ketoconazol, nistatina, clorhidrato de
terbinafina. Al menos un antimalárico, al menos uno seleccionado de clorhidrato
de cloroquina, fosfato de cloroquina, doxiciclina, sulfato de hidroxicloroquina,
clorhidrato de mefloquina, fosfato de primaquina, pirimetamina, pirimetamina con
15 sulfadoxina. Al menos un antituberculoso o antileproso que puede ser al menos
uno seleccionado de clofazimina, cicloserina, dapsona, clorhidrato de etambutol,
isoniazida, pirazinamida, rifabutina, rifampin, rifapentina, sulfato de estreptomina.
Al menos un aminoglicósido que puede ser al menos uno seleccionado de sulfato
de amikacina, sulfato de gentamicina, sulfato de neomicina, sulfato de
20 estreptomina, sulfato de tobramicina. Por lo menos una penicilina que puede ser
al menos una seleccionada de amoxicilina / clavulanato de potasio, amoxicilina
trihidrato, ampicilina, ampicilina sódica, ampicilina trihidrato, ampicilina sódica/
sulbactam sódico, cloxacilina sódica, dicloxacilina sódica, mezlocilina sódica,

naftilina sódica, oxacilina sódica, penicilina G benzatina, penicilina G potásica, penicilina G procaina, penicilina G sódica, penicilina V potásica, piperacilina sódica, piperacilina sódica / tazobactam sódico, ticarcilina disódica, ticarcilina disódica / clavulanato potásico. Al menos una cefalosporina que se puede

5 seleccionar de por lo menos de cefaclor, cefadroxil, cefazolina sódica, cefdinir, cefepima clorhidrato, cefixima, cefmetazol sódico, cefonicida sódica, cefoperazona sódica, cefotaxime sódico, cefotetan disódico, cefoxitin sódico, cefpodoxima proxetil, cefprozil, ceftazidima, ceftibuten, ceftizoxima sódica, ceftriaxona sódica, cefuroxima axetil, cefuroxima de sodio, cefalexina clorhidrato, cefalexina

10 monohidrato, cefradina, loracarbef. Al menos una tetraciclina que puede ser al menos una seleccionada de clorhidrato de demeclociclina, doxiciclina de calcio, doxiciclina hclato, clorhidrato de doxiciclina, doxiciclina monohidrato, minociclina clorhidrato, clorhidrato de tetraciclina. Al menos una sulfonamida que puede ser al menos una seleccionada de co-trimoxazol, sulfadiazina, sulfametoxazol,

15 sulfisoxazol, sulfisoxazol acetil. Al menos una fluoróquinolona que puede ser al menos una seleccionada de alatrofloxacin mesilato, ciprofloxacin, enoxacin, levofloxacin, lomefloxacin clorhidrato, ácido nalidixico, norfloxacin, ofloxacin, esparfloxacin, trovafloxacin mesilato. Al menos una fluoroquinolona que puede ser al menos una seleccionada de alatrofloxacin mesilato, ciprofloxacin,

20 enoxacin, levofloxacin, lomefloxacin clorhidrato, ácido nalidixico, norfloxacin, ofloxacin, esparfloxacin, trovafloxacin mesilato. Al menos un antiviral que puede ser por lo menos uno seleccionado de abacavir sulfato, aciclovir de sodio, amantadina clorhidrato, amprenavir, cidofovir, delavirdina mesilato, didanosina,

46
80

efavirenz, faniciclovir, fomivirsen de sodio, foscarnet de sodio, ganciclovir, indinavir sulfato, lamivudina, lamivudina / zidovudina, nelfinavir mesilato, nevirapina, oseltamivir fosfato, ribavirina, clorhidrato de rimantadina, ritonavir, saquinavir, saquinavir mesilato, estavudina, valaciclovir clorhidrato, zalcitabina, zanamivir, zidovudina. Al menos un anti-infeccioso macrolínea que puede ser al menos uno seleccionado de azitromicina, claritromicina, diritromicina, eritromicina base, eritromicina estolato, eritromicina etilsuccinato eritromicina lactobionato, eritromicina estearato. Al menos un anti-infeccioso misceláneo que puede ser al menos uno seleccionado de aztreonam, bacitracin, cloramfenicol sodio succinato, clindamicin clorhidrato, clindamicin palmitato clorhidrato, clindamicin fosfato, imipenem y cilastalina de sodio, meropenem, macrocristales de nitrofurantoina, microcristales de nitrofurantoina, quinopristin / dalfopristin, espectinomycin clorhidrato, trimetropin, clorhidrato de vancomicina (ver, e. g., pp 24-214 de *Nursing 2001 Drug Handbook*).

15

Al menos un inotrópico que puede ser al menos uno seleccionado de amrinona lactato, digoxina, milrinona lactato. Al menos un anti-arrítmico que puede ser por lo menos uno seleccionado de adenosina, clorhidrato amiodarona, sulfato de atropina, tosilato de bretilio, clorhidrato diltiazemdisopiramida, disopiramida fosfato, clorhidrato de smolol, acetato de flecainida, fumarato de ibutilido, clorhidrato de lidocaina, clorhidrato de mexiletina, clorhidrato de moricizina, fenitoina, fenitoina sódica, clorhidrato de procainamida, clorhidrato de propafenona, clorhidrato de propanolol, bisulfato de quinidina, gluconato de

20

quinidina, poligalactreronato de quinidina, sulfato de quinidina, sotalol, clorhidrato de tocinida, clorhidrato de verapamilo. Al menos un antiangina que puede ser por lo menos uno seleccionado de amlodipina besilato, amil nitrato, clorhidrato de bepridil, clorhidrato de diltiazem, dinitrato de isosorbide, mononitrato de isosorbide, nadolol, clorhidrato de nicardipina, nifedipina, nitroglicerina, clorhidrato de propanolol, veparamilo, clorhidrato de veparamilo. Al menos un antihipertensivo que puede ser por lo menos uno seleccionado de clorhidrato de acebutolol, besilato de amlodipina, atenolol, benazepril clorhidrato, betaxolol clorhidrato, fumarato de bisoprolol, cilexetil candesartán captopril, clorhidrato de carteolol, carvedilol, clonidina, clorhidrato de clonidina, diazoxido, clorhidrato de diltiazem, mexilato de doxazosina, enalaprilat, maleato de enalapril, eprosartán mesilato, felodipina, fenoldopam mesilato, fosinopril de sodio, acetato de guanabenz, sulfato de guanadrel, clorhidrato de guanfacina, clorhidrato de hidralazina, irbesartan, isradipina, clorhidrato de labetalol, lisinopril, losartan potásico, metildopa, clorhidrato de metildopa, succinato de metoprolol, tartrato de metoprolol, minodixil, clorhidrato de moexipril, nadolol, clorhidrato de nicardipina, nifedipina, nisaldipina, nitroprusiato sódico, sulfato de penbutolol, perindopril erbumina, mesilato de fentolamina, pindolol, clorhidrato de prazosina, clorhidrato de propanolol, clorhidrato de quinapril, ramipril, telmisartan, clorhidrato de terazosina, maleato de timolol, trandolapril, valsartan, clorhidrato de verapamilo. Al menos un antilipémico que puede ser al menos uno seleccionado de atorvastatina de calcio, cerivastatina de sodio, colestiramina, clorhidrato de colestipol, fenofibrato micronizado, fluvastatina de sodio, gemfibrozil, lovastatina,

niacina, pravastatina de sodio, simvastatina. Al menos un medicamento
misceláneo CV que puede ser al menos uno seleccionado de abciximab,
alprostadil, arbutamina clorhidrato cilostazol, clopidogrel bisulfato, dipiridamol,
heptifibatida, midodrina clorhidrato, pentoxifilina, ticlopidina clorhidrato, tirofiban
5 clorhidrato (ver, e. g., pp 215-336 de Nursing 2001 Drug Handbook).

Por lo menos un analgésico no narcótico o antipirético que puede ser por lo
menos seleccionado de acetaminofén, aspirina, colina magnesio trisalicilato,
diflunisal, salicilato de magnesio. Por lo menos un medicamento antiinflamatorio
10 no esteroideal que puede ser por lo menos uno seleccionado de celecoxib,
diclofenac de potasio, diclofenac sódico, etodolac, fenoprofen cálcico, flurbiprofen,
ibuprofeno, indometacina, indometacina de sodio trihidrato, ketoprofen, ketorolac
trometamina, nabometona, naproxeno, naproxeno sódico, oxaprozina, piroxicam,
rofecoxib, sulindac. Por lo menos un analgésico narcótico u opioide que puede ser
15 por lo menos uno seleccionado de alfentamil clorhidrato, buprenorfina clorhidrato,
butorfanol tartrato, codeína fosfato, codeína sulfato, fentamil citrato, sistema
fentamil transdérmico, fentamil transmucosa, hidromorfona clorhidrato, meperidina
clorhidrato, metadona clorhidrato, morfina clorhidrato, morfina sulfato, morfina
tartrato, nalbufina clorhidrato, oxicodona clorhidrato, oxicodona pectinato,
20 oximorfona clorhidrato, pentazocina clorhidrato, pentazocina clorhidrato y naloxona
clorhidrato, pentazocina lactato, propoxifeno clorhidrato, propoxifeno napsilato,
remifentamil clorhidrato, sufentanil citrato, tramadol clorhidrato. Por lo menos un
hipnótico sedativo que puede ser por lo menos uno seleccionado de hidrato de

cloral, estazolam, flurazepam clorhidrato, pentobarbital, pentobarbital sódico, fenobarbital sódico, secobarbital sódico, temazepam, triazolam, zaleplon, zolpidem tartrato. Al menos un anticonvulsionante que puede ser por lo menos uno seleccionado de acetazolamida sódico, carbamazepina, clonazepam, 5 clorazepato dipotásico, diazepam, divalproex sódico, etosuximida, fosfenitoina de sodio, gabapentina, lamotrigina, sulfato de magnesio, fenobarbital, fenobarbital sódico, fenitoina, fenitoina sódica, fenitoina sódica (extendida), primidona, tiagabina clorhidrato, topiramato, valproato sódico, ácido valproico. Al menos un antidepresivo uno por lo menos seleccionado de amitriptilina clorhidrato, 10 amitriptilina pamoato, amoxapina, bupropion clorhidrato, citalopram bromhidrato, clamipramina clorhidrato, desipramina clorhidrato, doxepina clorhidrato, fluoxetina clorhidrato, imipramina clorhidrato, imipramina pamoato, mirtazapina, nefazodona clorhidrato, nortriptilina clorhidrato, paroxetina clorhidrato, fenelsina sulfato, sertralina clorhidrato, tranilcipromina sulfato, trimipramina maleato, venlafaxina 15 clorhidrato. Al menos un medicamento anti ansiedad que puede ser por lo menos uno seleccionado de alprazolam, buspirona clorhidrato, clordiazepoxido clorhidrato, clorazepato dipotásico, diazepam, doxepina clorhidrato, hidroxizina embonato, hidroxizina clorhidrato, hidroxizina pamoato, lorazepam, mefrobamato, midazolam clorhidrato, oxazepam. Por lo menos un medicamento antimicótico 20 que puede ser al menos uno seleccionado de clorpromazina clorhidrato, clozapina, flufenazina decanoato, fluefenazina enantato, flufenazina clorhidrato, haloperidol, haloperidol decanoato, haloperidol lactato, loxapina clorhidrato, loxapina succinato, mesoridazina besilato, molindona clorhidrato, olanzapina, perfenazina, pimozida,

proclorperazina, quetiapina fumarato, risperidona, tioridazina clorhidrato, tiotixeno, tiotixeno clorhidrato, trifluoperazina clorhidrato. Por lo menos un estimulante del sistema nervioso central que puede ser por lo menos uno seleccionado de sulfato de anfetamina, cafeina, dextroamfetamina sulfato, doxapram clorhidrato, 5 metanfetamina clorhidrato, metilfenidato clorhidrato, modafinil, pemolina, fentermina clorhidrato. Al menos un antiparkinsoniano que puede ser por lo menos uno seleccionado de amantadina clorhidrato, benzotropina mesilato, biperiden clorhidrato, biperiden lactato, bromocriptina mesilato, carbidopa – levadopa, entacapone, levadopa, pergalida mesilato, pramipexol diclorhidrato, 10 ropinirola clorhidrato, selegilina clorhidrato, tolcapone, trihexfenidil clorhidrato. Al menos un medicamento misceláneo del sistema nervioso central que puede ser por lo menos uno seleccionado de bupropion clorhidrato, donepezil clorhidrato, droperidol, fluvoxamina maleato, carbonato de litio, citrato de litio, naratriptan clorhidrato, nicotina polacrilix, sistema nicotina transdérmica, propofol, rizatriptan 15 benzoato, sibutramina clorhidrato monohidrato, sumatriptan succinato, tacrina clorhidrato, zolmitriptan (ver e. g. pp 337 – 530 de *Nursing 2001 Drug Handbook*). Al menos un colinérgico (e. g., parasimpatomimético) que puede ser por lo menos uno seleccionado de betanecol cloruro, edrofonio cloruro, neostigmina bromuro, neostigmina metilsulfato, fisostigmina salicilato, piridostigmina bromuro. 20 Al menos un anticolinérgico que puede ser por lo menos uno seleccionado de sulfato de atropina, dicitlomina clorhidrato, glicopirrolato, hiosciamina, hiosciamina sulfato, propantelina bromuro, escopolamina, escopolamina butilbromuro, escopalamina bromhidrato. Al menos un adrenérgico (simpatomimético) que

puede ser al menos uno seleccionado de dobutamina clorhidrato, dopamina clorhidrato, metaraminol bitartrato, norepinefrina bitartrato, fenil efedrina clorhidrato, pseudoefedrina clorhidrato, pseudoefedrina sulfato. Al menos un bloqueador adrenérgico (simpatolítico) que puede ser al menos uno seleccionado de dihidroergotamina mesilato, ergotamina tartrato, metilsergida maleato, 5 propanolol clorhidrato. Al menos un relajante del músculo esquelético que puede ser por lo menos uno seleccionado de baclofen, carisoprodol, clorzoxazona, ciclobenzaprina clorhidrato, dantroleno sódico, metocarbamol, tizanidina clorhidrato. Al menos uno de los bloqueadores neuromusculares que se pueden 10 seleccionar de atracurio besilato, cisatracurio besilato, doxacurio cloruro, mivacurio cloruro, pancuronio bromuro, pipecuronio bromuro, rapacuronio bromuro, rocuronio bromuro, succinil colina cloruro, tubocurarina cloruro, vecuronio bromuro (ver, e, g., pp 531 – 84 de Nursing 2001 Drug Handbook).

15 Al menos una histamina seleccionada de bromfeniramina maleato, clorhidrato de cetirizina, maleato de clorfeniramina, fumarato de clemastina, clorhidrato de ciproheptadina, clorhidrato de difenhidramina, clorhidrato de fexofenadina, loratadina, clorhidrato de prometazina, teoclate de prometazina, clorhidrato de tripolidina. Al menos uno de los broncodilatadores se puede 20 seleccionar de albuterol, sulfato de albuterol, aminofinila, sulfato de atropina, sulfato de efedrina, epinefrina, bitartrato de epinefrina, clorhidrato de epinefrina, bromuro de ipratropio, isoproterenol, clorhidrato de isoproterenol, sulfato de isoproterenol, clorhidrato de levalbuterol, sulfato de metaproterenol, oxtrifilina,

acetato de pirbuterol, xinfoato de salmeterol, sulfato de terbutaina, teofilina. Al menos un expectorante o antitusivo se puede seleccionar de benzonatato, fosfato de codeína, sulfato de codeína, bromhidrato de dextrameterfano, clorhidrato de difenhidramina, guayafenesina, clorhidrato de hidromorфона. Al menos un medicamento respiratorio misceláneo que e puede seleccionar de acetil cisteina, 5 dipropionato de beclometasona, beractant, budensonida, calfactan, cromolina de sodio, domasa alfa, epoprostenol sodico, flinisolida, fluticasona propionato, montelukast sódico, nedocromil sódico, pailvizumab, triamcinolona, aceonida, zafirlukast, zilebutón (Ver, e.g., pp 585-642 de clorhidrato de

10

Al menos un antiácido, adsorbentes o antiflatulentos se pueden seleccionar de carbonato de aluminio, hidróxido de aluminio, carbonato de calcio, magaldrtato, sir{oxido de magnesio, óxido de magnesio, simeticona, bicarbonato de sodio. Al menos una enzima digestiva o solubilizadores de cálculos biliares seleccionado al 15 menos de pancreatina, pancrelipasa, ursodiol. Al menos un antidiarreico que puede ser seleccionado de atapulgita, subsalicilato de bismuto, policarbofil de calcio, clorhidrato difenoxilato o sulfato de atropina, loperamida, acetato de octreoida, tintura de opio (alcanforada). Al menos un laxativo que se puede seleccionar de bisocodil, policarbofil de calcio, cáscara sagrada, extracto fluido 20 aromático de cáscara sagrada, extracto fluido de cáscara sagrada, aceite de castor, docusato de calcio, docusato de sodio, glicerina, lactulosa, citrato de magnesio, hidróxido de magnesio, sulfato de magnesio, metil celulosa, aceite mineral, polietilengicol o solución electrolítica, sileum, senna, fosfatos de sodio.

Por lo menos un antiemético que se puede seleccionar de clorhidrato de clorpromazina, dimenhidrinato, dolasetrón mesilato, dronabinol, clorhidrato de ondansetrón, perfenazina, proclorperazina, edisilato de proclorperazina, maleato de proclorperazina, clorhidrato de prometazina, escopolamina, maleato de trietilperazina, clorhidrato de trimetobenzamida,, Al menos un medicamento antiulceroso que se puede seleccionar de cimetidina, clorhidrato de cimetidina, famotidina, lansoprazol, misoprostool, nizatidina, omeprazol, rabeprazol sódico, citrato de bismuto ranetidina, clorhidrato de ranetidina, sucralfato, (Ver, e.g., pp 643-95 de *Nursing 2001 Drug Handbook*). Al menos un corticosteroide que puede ser seleccionado de betametasona, acetato de betametasona o fosfato sódico de betametasona, acetato de cortisona, dexametasona, acetato de dexametasona, fosfato sódico de dexametasona, acetato de fludrocortisona, hidrocortisona, acetato de hidrocortisona, cipionato de hidrocortisona, fosfato sódico de hidrocortisona, succinato sódico de hidrocortisona, metil prednisolona, acetato de prednisolona, succinato sódico de metilprednisolona, prednisolona, acetato de prednisolona, fosfato sódico de prednisolona, tebutato de prednisolona, prednisona, triamcinolona, acetona de triamcinolona, diacetato de triamcinolona. Al menos un androgénico o esteroides anabólicos que se puede seleccionar de danazol, fluoximesterona, metiltestosterona, decanoato de nandrolona, fenpropionato de nandrolona, testosterona, cipionato de testosterona, enantato de testosterona, propionato de testosterona, sistema transdérmico de testosterona. Al menos un estrógeno o progestina que se puede seleccionar de estrógenos esterificafos, estradiol, cipionato de estradiol, estradiol/ sistema transdérmico de

acetato de norentindrona, valeriato de estradiol, estrógenos (conjugados), estropipato, etinil estradiol, etinil estradiol y desogestrel, etinil estradiol y etinodiol diacetato, etinil estradiol y desogestrel, etinil estradiol y etinodiol diacetato, etinil estradiol y levonorgestrel, etinil estradiol y norentindrona, etinil estradiol y acetato de norentidrona, etinil estradiol y norgestimato, etinil estradiol y norgestrel, etinil estradiol y norentidrona, y acetato y fumarato ferroso, levonorgestrel, medroxiprogesterona acetato, mestranol y norentidrona, norentindrona, acetato de norentindrona, norgestrel progesterona. Al menos una gonadotropina que se puede seleccionar de acetato de ganirelix, acetato de gonadoremina, acetato de histrelina, menotropinas. Al menos un antidiabético o glucagón que se puede seleccionar de acarbosa, clorpropamida, glimepirida, glipizida, glucagón, gliburida, insulinas, clorhidrato de metformina, miglitol, clorhidrato de pioglitazona, repaglinida, maleato de rosiglitazona, troglitazona. Al menos una hormona tiroidea que se puede seleccionar de levotiroxina sódica, liotirorina sódica, liotrix, tiroide.

Al menos un antagonista de la hormona tiroidea que se puede seleccionar de mietimazol, yodura de potasio, yoduro de potasio (solución saturada), propil tiouracil, yodo radiactivo (yoduro de sodio¹³¹I), solución fuerte de yodo. Al menos una hormona pituitaria que se puede seleccionar de corticotropina, cosintropina, acetato de desmofresina, acetato de leuprolida, repositorio corticotropina, somatrem, somtropin, vasopresina,. Al menos un medicamento como paratiroideo que se puede seleccionar de calcifediol, calcitonina(humana), calcitonina(salmón), calcitriol, dihidrotaquisterol, etidronato disódico. (Ver, e.g., pp. 696-796 de *Nursing 2001 Drug Handbook*)

Al menos un diurético que se puede seleccionar de acetazolamida sódica, clorhidrato de amilorida, bumetanida, clortalidona, etacrinato sódico, ácido etacrínico, furosemida, hidroclorotiazida, indapamida, manitol, metolazona, espironolactona, torsemida, triamtereno, úrea. Al menos un electrolito o una
 5 solución de reemplazo que se puede seleccionar de acetato de calcio, carbonato de calcio, cloruro de calcio, citrato de calcio, gluconato de calcio, gluceptato de calcio, gluconato de calcio, lactato de calcio, fosfato de calcio (dibásico), fosfato de calcio (tribásico), dextran (alto peso molecular), dextran (bajo peso molecular, hetalmidón, cloruro de magnesio, sulfato de magnesio, acetato de potasio,
 10 bicarbonato de potasio, cloruro de potasio, gluconato de potasio, inyección de Ringer, inyección de Ringer (lactada),. Cloruro de sodio. Al menos un acidificante o alcalinizante que puede ser seleccionado de bicarbonato de sodio, lactato de sodio, trometamina. (ver e.g., pp. 797-833 de *Nursing 2001 Drug Handbook*).

15 | Al menos un hematínico que se puede seleccionar de fumarato ferroso, gluconato ferroso, sulfato ferroso, sulfato ferroso(seco), hierro dextrano, hierro sorbitol, complejo polisacárido-hierro, complejo gluconato sódico férrico. Por lo menos un anticoagulante que se puede seleccionar de ardeparina de sodio, dalteparina de sodio, danaparoide de sodio, enoxaparina de sodio, heparina de
 20 calcio, heparina de sodio, warfarina de sodio. Por lo menos un derivado sanguíneo se puede seleccionar de albúmina 5%, albúmina 25%, factor antihemofílico, complejo antiinhibidor coagulante, antitrombina III (humana), factor IX (humano) complejo factor IX, fracciones de proteína de plasma. Por lo menos una enzima

trobolítica se puede seleccionar de alteplasa, anistreolasa, reteplasa (recombinante), estreptoquinasa, uroquinasa. (ver e.g., pp 8334-86 de *Nursing 2001 Drug Handbook*).

- 5 Al menos un medicamento alquilante que puede ser seleccionado de busulfan, carboplatin, carmustina, clorambucil, cisplatino, ciclofosfamida, ifosfamida, lomustina, mecloretamina clorhidrato, melfalan, clorhidrato de melfalan, estreptocina, temozolomida, tiotepa. Al menos un antimetabolito que se puede seleccionar de capesitabina, cladribina, citarabina, flouxiridina, fosfato de fludarabina, fluorouracilo,
- 10 hidroxiaurea, mercaptopurina, metotrexato, metotrexato sódico, tioguanina. Al menos un antibiótico antineoplásico que se puede seleccionar de sulfato de bleomicina, dactinomicina, citrato de daunorubicina liposomal, clorhidrato de daunorubicina, clorhidrato de doxorubicina, clorhidrato de doxorubicina liposomal, clorhidrato de epirubicina, clorhidrato de idarubicina, mitomicina, pentostatina,
- 15 plicamicina, valrubicina. Al menos un antineoplásico que altere el balance hormonal se puede seleccionar de anastrozol, bicalutamida, estramustina, fosfato disódico, exemestano, flutamida, acetato de goserelina, letrozol, acetato de leuprolida, acetato de megestrol, nilutamida, citrato de tamoxifen, testolactona, citrato de toremifeno. Al menos un antineoplásico misceláneo que se puede
- 20 seleccionar de asparaginasa, bacilos Calmete-Guerin (BCG) (vida intravesical), dacarbazina, docetaxel, etoposide, fosfato de etoposide, gemcitabina clorhidrato, clorhidrato de irinotecan, mitotane, clorhidrato de mitoxantrón, paclitaxel, pegaspargasa, porfímero de sodio, procarbazona clorhidrato, rituximab,

Teniposide, clorhidrato de topotecan, trastuzumab, tretinoína, sulfato de vinblastina, sulfato de vincristina, tartrato de vinorelbina. (Ver, e.g., pp 867-963 de *Nursing 2001 Drug Handbook*).

- 5 Al menos un inmunosupresor que se puede seleccionar de las azatioprina, basiliximab, ciclosporina, daclizumab, globulina inmune de linfocito, muromonab-CD3, mofetilmicofenolato, clorhidrato mofetilmicofenolato, sirolimos, tacrolimos. Al menos una vacuna o un toxoide que se puede seleccionar de vacuna BCG, vacuna de la cólera, difteria y toxoides de tétano (adsorbido) como toxoides de
- 10 difteria y tétano y vacuna adsorbida de pertusis acelular, toxoides de difteria y tétano y vacuna pertusis de célula total, *Haemophilus b* vacunas conjugadas, vacuna de la hepatitis A (inactivada), vacuna de la hepatitis B (recombinante), vacuna del virus de la influenza 1999-2000 tipos trivalente A y B/antígeno de superficie purificada), vacuna del virus de la influenza 1999-2000 tipos trivalente A
- 15 y B (subvirión o subvirión purificado), vacuna del virus de la influenza 1999-2000 tipos trivalente A y B (virión total), vacuna del virus de la encefalitis Japonesa (inactivado), vacuna de la enfermedad del Lyme (OspA recombinante), vacuna del virus de la rubéola y helmintos y paperas (vivas), vacuna del virus de helmintos y paperas y rubéola (atenuada viva), vacuna del virus helmintos (atenuada viva),
- 20 vacuna polisacarido meningococo, vacuna del virus de la papera (viva), vacuna de la plaga, vacuna de neumococo(polivalente), vacuna del virus del polio (inactivada), vacuna del virus del polio (viva, oral, trivalente), vacuna de la rabia (adsorbida), vacuna de la rabia (célula diploide humana), toxoide del tétano

(adsorbido), toxoide del tétano (líquido), vacuna tipoide (oral), vacuna tipoide (parenteral), vacuna polisacárido tipoide Vi, vacuna del virus de la varicela, vacuna de la fiebre amarilla. Por lo menos una antitoxina o antivenina seleccionada del antivenina de la araña Viuda Negra, antiveneno de cóctalo (polivalente), antitoxina de la difteria (equina), antivenina *Micrurus fulvius*). Por lo menos un suero inmune se puede seleccionar de globulina inmune del citomegalovirus (intravenosa), globulina inmune de hepatitis B (humana), globulina inmune intramuscular, globulina inmune intravenosa, globulina inmune de la rabia (humana), globulina inmune del virus respiratorio sincitial (humana), globulina inmune Rh₀ (D) (humana), globulina inmune Rh₀ (D) intravenosa (humana), globulina inmune del tétano (humana), globulina inmune varicela-zoster. Al menos modificadores de respuesta biológica que se pueden seleccionar de aldesleukina, epoetina alfa, filgrastim, glatiramer acetato para inyección, interferon alfa-1, interferon alfa-2^a (recombinante), interferon alfa-2b (recombinante), interferon beta-1^a, interferon beta-1b (recombinante), interferon gamma-1b, levamisol clorhidrato, oprelvekin, sargramostin. (Ver e.g., 964-1040 de *Nursing 2001 Drug Handbook*).

Por lo menos antiinfecciosos oftálmicos que se puede seleccionar de formas de bacitracina, cloramfenicol, clorhidrato de ciprofloxacina, eritromicina, sulfato de gentamicina, ofloxacina 0.3%, sulfato de polimixina B, sulfacetamida de sodio 10%, sulfacetamida de sodio 15%, sulfacetamida de sodio 30%, tobramicina, vidarabina. Al menos un anti-inflamatorio oftálmico que se puede seleccionar de dexametasona, fosfato sódico de dexametasona, diclofenac sódico 0.1%,

fluorometolona, flurbiprofen sódico, ketorolac trometamina, acetato de prednisolona (suspensión), fosfato sódico de prednisolona (solución). Al menos un miótico que se puede seleccionar de cloruro de acetilo colina, carbacol (intraocular), carbacol (tópico), yoduro de ecotiofato, pilocarpina, clorhidrato de pilocarpina, nitrato de pilocarpina. Al menos un midriático que se puede seleccionar de sulfato de atropina, clorhidrato de ciclopentolato, clorhidrato de epinefrina, borato de epinefril, bromidrato de omatropina, clorhidrato de fenilefrina, bromidrato de escopolamina, tropicamida. Al menos un vaso constrictor oftálmico que se puede seleccionar de clorhidrato de nafazolina, clorhidrato de oximetazolina, clorhidrato de tetrahidrozolina. Al menos un oftálmico misceláneo que se puede seleccionar de apraclonidina clorhidrato, clorhidrato de betaxolol, tartrato de brimonidina, clorhidrato de carteolol, clorhidrato de dipivefrin, clorhidrato de dorsolamida, difumarato de emedastina, fluoresceína sódica, fumarato de ketotifen, latanoprost, clorhidrato de levobunolol, clorhidrato de metipranolol, cloruro de sodio (hipertónico), timolol maleato. Al menos unótico que se puede seleccionar de ácido bórico, peróxido de carbamida, cloranfenicol, trietanolamina polipéptido oleato condensada. Al menos un medicamento nasal que se puede seleccionar de beclometasona dipropionato, budesonida, sulfato de efedrina, clorhidrato de epinefrina, flunisolida, fluticasona propionato, nafazolina clorhidrato, oximetazolina clorhidrato, clorhidrato de fenilefrina, clorhidrato de tetrahidrozolina, triamsinolona acetónido, clorhidrato de xilometazolina (ver, e.g., pp 1041-97 de *Nursing 2001 Drug Handbook*).

Al menos un anti-infeccioso local se puede seleccionar de aciclovir, anfotericina B, crema de ácido azelaico, bacitracina, nitrato de butoconazol, fosfato de clindamicina, clotrimazol, nitrato de econazol, eritromicina, sulfato de gentamicina, ketoconazol, acetato de mafenida, metronidazol (tópico), nitrato de miconazol, mupirosina, clorhidrato de naftifina, sulfato de neomicina, nitrafurazona, nistatina, sulfadiazina de plata, clorhidrato de terbinafina, terconazol, clorhidrato de tetraciclina, tioconazol, tolnaftato. Al menos un escabicida o pediculicida se puede seleccionar de crotamiton lindano, permetrina, piretrinas. Al menos un corticosteroide tópico seleccionado de dipropionato de betametasona, valerato de betametasona, propionato de clobetasol, desonida, desoximetasona, dexametasona, fosfato sódico de dexametasona, diacetato de diflorasona, fluocinolona acetónido, fluocinonida, flurandrenolida, propionato de fluticasona, halcionida, hidrocortisona, acetato de hidrocortisona, butirato de hidrocortisona, valerato de hidrocortisona, furoato de mometasona, triamcinolona, acetónido (ver, e.g., pp. 1098-1136 de *Nursing 2201 Drug Handbook*).

Por lo menos una vitamina o mineral que se puede seleccionar de vitamina A, complejo de vitamina B, cianocobalamina, ácido fólico, hidroxocobalamina, leucovorina de calcio, niacina, niacinamida, clorhidrato de piridoxina, riboflavina, clorhidrato de tiamina, vitamina C, vitamina D, colecalciferol, ergocalciferol, análogo de vitamina D, doxercalciferol, paricalcitol, vitamina E, análogo de vitamina K, fitonadiona, fluoruro de sodio, fluoruro de sodio (tópico), elementos traza, cromo, cobre, yodo, manganeso, selenio, zinc. Al menos un calórico que se

puede seleccionar de infusiones (cristalinas) de aminoácido, infusiones de aminoácido en dextrosa, infusiones de aminoácido para falla hepática, infusiones de aminoácido con electrolitos, infusiones de aminoácido con electrolitos en dextrosa, infusiones de aminoácido para falla hepática, infusiones de aminoácido para alto estrés metabólico, infusiones de aminoácido para falla renal, dextrosa, emulsiones de grasa, triglicéridos de cadena media. (ver, e.g., pp. 1137-63 de *Nursing 2001 Drug Handbook*).

El anticuerpo del cuerpo mimético CH1 suprimido o composiciones de polipéptidos de la presente invención, puede además comprender por lo menos, una de cualquier cantidad adecuada y/o efectiva de una composición o composición farmacéutica que comprende al menos una proteína o anticuerpo del cuerpo mimético CH1 suprimida a una célula, tejido, órgano, animal o paciente en necesidad de tal modulación, tratamiento o terapia, opcionalmente además comprende al menos uno de los seleccionados de por lo menos un antagonista TNF (e. g., pero no limitado a un antagonista químico o protéico de TNF, monoclonal TNF o anticuerpo policlonal o fragmento, un receptor TNF soluble (e. g., p55, p70, o p85) o fragmento, fusión de polipéptidos de los mismos, o una pequeña molécula antagonista de TNF, e. g., una proteína I ó II enlazante de TNF (TBP-I ó TBP-II) nerelimonmab, infliximab entercept, CDP-571, CDP-870, afelimomab, lenercept, y similares), un antirreumático (e. g., metotrexato, auranofin, aurotioglucosa, azatioprina, etanercept, tiomalato sódico de oro, hidroxicloroquinona sulfato, leflunomida sulfasalzina, un relajante muscular, un

narcótico, un medicamento inflamatorio no esteroideal (NSAID), un analgésico, un anestésico, un sedante, un anestético local, un bloqueador neuromuscular, un antimicrobiano (e. g., aminoglicósido, un antifúngico, un antiparasitario, un antiviral, un carbapenem, cefalosporina, una flurorquinolona, un macrólido, una penicilina, una sulfonamida, una tetraciclina otro antimicrobiano), un antisorfático, un corticosteroide, un esteroide anabólico, un agente relacionado con la diabetes, un mineral, un nutricional, un agente tiroideo, una vitamina, una hormona relacionada con el calcio, un antidiarréico, un antitusivo, un antiemético, un antiulceroso, un laxante, un anticoagulante, una eritropoyetina (e.g., epoetina alfa), una filgrastim (e.g., G - CSF, Neupogen), una sargra-mostim (GM - CSF, Leuquina), una inmunización, una inmunoglobulina, un inmunosupresor (e.g., basiliximab, ciclosporina, daclizumab), una hormona del crecimiento, un medicamento de reemplazo de hormona, un modulador de receptor de estrógeno, un midriático, un cicloplégico, un agente alquilante, un antimetabolito, un inhibidor mitótico, un radiofármaco, un antidepresivo, agente antimaniaco, un antisicótico, un ansiolítico, un hipnótico, un simpatomimético, un estimulante, donepezil, tacrina, una medicación para asma, un agonista - beta, un esteroide inhalado, un inhibidor leucotrieno, una metilxantina, una cromolina, una epinefrina o análogo, domasa alfa (Pulmozima), una citoquina, o un antagonista de citoquina. Ejemplos no limitantes de tales citoquinas incluyen pero no se limitan a cualquiera de IL - 1 a IL - 23. Las dosificaciones adecuadas se conocen bien en el arte. Ver e.g. Wells et. al., eds., Pharmacotherapy Handbook 2ª. Edition, Appleton and Lange, Stamford, CT (2000): PDR Pharmacopoeia, Tarascon Pocket Pharmacopoeia

2000, Deluxe Edition, Tarascon Publishing, Loma Linda, CA (2000), cada una de las referencias están completamente incorporadas aquí por referencia.

Tales composiciones pueden incluir moléculas de toxina que están asociadas, enlazadas, co - formuladas o co - administradas con al menos un anticuerpo o polipéptido de la presente invención. La toxina puede opcionalmente actuar selectivamente matando la célula patológica o tejido. La célula patológica puede ser un cáncer u otra célula. Tales toxinas pueden ser pero no están limitadas a, toxinas purificadas o recombinantes o fragmentos de toxinas que comprenden al menos un dominio citotóxico funcional de toxina, e.g., seleccionada de al menos uno de ricino, toxina de la difteria, toxina de veneno, o una toxina bacteriana. El término toxina también incluye ambas endotoxinas y exotoxinas producidas por cualquier bacteria o virus de ocurrencia natural, recombinante o mutante que puede causar cualquier condición patológica, en humanos y en otros mamíferos, incluyendo shock de toxina, el cual puede conducir a la muerte. Tales toxinas pueden incluir, pero no se limitan a enterotoxinas (LT) *E. Coli* labil al calor enterotoxigénica, enterotoxina (ST) estable al calor, *Shigella* citotoxina, *Aeromonas* enterotoxinas, síndrome de shock Tóxico Toxina - 1 (TSST - 1), enterotoxina estafilocócica A (SEA), B (SEB), o C (SEC), enterotoxinas estreptocócicas y similares. Tales bacterias incluyen pero no están limitadas a, cepas de especies de *E. Coli* (ETEC) enterotoxigénica, *E. Coli* enterohemorrágica (e.g. cepas de serotipo 0157: H7), especies de estafilococos (e.g., *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus pyogenes*), especies *Shigella* (e.g., *Shigella dysenteriae*,

Shigella flexneri, *Shigella boydii* y *Shigella sonnei*), especies *Salmonella* (e.g., *Salmonella typhi*, *Salmonella cholera-suis*, *Salmonella enteritidis*), especies *Clostridium* (e.g., *Clostridium perfringens*, *Clostridium difficile*, *Clostridium botulinum*), especies *Camphlobacter* (e.g., *Camphlobacter jejuni*, *Camphlobacter fetus*), especie *Heliobacter* (e.g., *Heliobacter pylori*), especies *Aeromonas* (e.g., *Aeromonas sobria*, *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas caviae*), *Pleisomonas shigelloides*, *Yersinia enterocolitica*, especies *Vibrios* (e.g., *Vibrios cholerae*, *Vibrios parahemolyticus*), especies *Klebsiella*, *Pseudomonas aeruginosa*, y *Streptococci*. Ver, e.g., Stein, ed., INTERNAL MEDICINE, 3rd ed., pp 1-13, little, brown and co., Boston, (1990); Evans et al., eds., bacterial infections of humans: Epidemiology and control, 2d. ed., pp 239-254, plenum Medical Book Co., New York (1991); Mandell et al, principles and practice of infectious Diseases, 3d. ed., Churchill Livingstone, New York (1990); Berkow et al, eds., The Merck Manual, 16th edition, Merck and Co., Rahway, N.J., 1992; Wood et al, FEMS Microbiology Immunology, 76:121-134 (1991); Marrack et al, Science, 248:705-711 (1990), los contenidos de las referencias se incorporan enteramente aquí por referencia.

El cuerpo mimético EPO mimética CH1 suprimida o porción especificada o composiciones variantes de la presente invención pueden además comprender al menos uno de cualquier auxiliar deseable, tal como, pero no limitado a diluyente, enlazante, estabilizador, amortiguadores, sales, solventes lipofílicos, preservativo, adyuvante o similares. Auxiliares farmacéuticamente aceptables son los preferidos. Ejemplos no limitantes de, y métodos de preparación de tales

+25
109

soluciones estériles son bien conocidas en el arte, tal como, pero limitadas a Gennaro, ed., Remington's Pharmaceutical Sciences 18th Edition, Mack Publishing Co. (Easton, PA) 1990. Portadores farmacéuticamente aceptables se pueden seleccionar rutinariamente los que son adecuados para el modo de administración, solubilidad y/o estabilidad de la composición cuerpo mimético EPO mimética CH1 suprimida, como bien se conoce en el arte o como se describe aquí.

Los excipientes farmacéuticos y aditivos útiles en la presente composición incluyen pero no se limitan a proteínas, péptidos, aminoácidos, lípidos, y carbohidratos (e.g., azúcares, incluyendo monosacáridos, di, tri, tetra y oligosacáridos; azúcares derivatizados, tales como alditoles, ácidos aldónicos, azúcares esterificados y similares y polisacáridos o polímeros de azúcar), los cuales están presente sencillamente o en combinación, comprendiendo solo o en combinación, 1 - 99,99% en peso o volumen. Excipientes de proteína ejemplares incluyen albúmina de suero, tal como albúmina recombinante (HSA), gelatina, caseína y similares. Aminoácidos representativos / cuerpo mimético EPO mimética CH1 suprimida o porción especificada o componentes variantes, los cuales pueden tener también la función en una capacidad amortiguadora, incluyen alanina, glicina, arginina, histidina, betaina, ácido glutámico, ácido aspártico, cisteína, lisina, leucina, isoleucina, valina, metionina, fenilalanina, aspartame y similares. Un aminoácido preferido es la glicina.

Los excipientes carbohidrato adecuados para ser usados en la invención incluyen por ejemplo monosacáridos, tales como fructosa, maltosa, galactosa, glucosa, D-manosa, sorbosa y similares; disacáridos, tales como: lactosa, sucrosa, tetrahalosa, celobiosa y similares; polisacáridos, tales como rafinosa, melezitosa, maltodextrinas, dextranos, almidones y similares; y alditoles, tales como manitol, xilitol, lactitol, xilitol sorbitol (glucitol), mioinositol y similares. Excipientes carbohidratos preferidos para ser usados en la presente invención son manitol, tetrahalosa y rafinosa.

10 Las composiciones cuerpo mimético EPO mimética CH1 suprimida pueden también incluir un amortiguador o un agente de ajuste del pH; típicamente, el amortiguador es una sal preparada de un ácido orgánico o base. Amortiguadores representativos incluyen sales de ácido orgánico, tales como sales de ácido cítrico, ácido ascórbico, ácido glucónico, ácido carbónico, ácido tartárico, ácido succínico, ácido acético, o ácido ftálico; Tris, clorhidrato de trometamina, o 15 amortiguadores de fosfato. Amortiguadores preferidos para uso en las composiciones de la presente invención son sales de ácidos orgánicos tales como citrato.

20 Adicionalmente el cuerpo mimético EPO mimética CH1 suprimida o porción especificada o composiciones variantes de la invención pueden incluir excipientes poliméricos / aditivos tales como polivinilpirrolidonas, ficoles (un azúcar polimérico), dextratos (e.g., ciclodextrinas tales como 2-hidroxipropil - β -

ciclodextrina), polietilen glicoles, agentes saborizantes, agentes antimicrobianos, endulzantes, antioxidantes, agentes antiestáticos, surfactantes (e.g., polisorbatos tal como "TWEEN 20" y "TWEEN 80", lípidos (e.g., fosfolípidos, ácidos grasos), esteroides (e.g., colesterol), y agentes quelantes (e.g., EDTA).

5

Estos excipientes farmacéuticos adicionales conocidos y/o aditivos adecuados para usarlos en las composiciones cuerpo mimético EPO mimética CH1 suprimida de acuerdo con la invención son conocidas en el arte, e.g., se listan en "Remington: The Science & Practice of Pharmacy" 19th ed. Williams y Williams, (1995), y en "Physician Desk Reference" 52 ed. Medical Economics, Montvale, NJ (1998), divulgaciones que se incorporan totalmente aquí por referencia. El portador preferido o materiales excipientes son carbohidratos (e.g., sacáridos y alditoles) y amortiguadores (e.g., citrato) o agentes poliméricos.

15 Formulaciones

Como se vio antes, la invención proporciona para formulaciones estables, las cuales pueden incluir preferiblemente un amortiguador adecuado con salina o una sal escogida, como también opcionalmente soluciones preservadas y formulaciones que contienen un preservativo como también formulaciones multiuso preservadas adecuadas para uso farmacéutico o veterinario, comprendiendo al menos un cuerpo mimético EPO mimética CH1 suprimida o porción especificada o variante en una formulación aceptable farmacéuticamente.

Las formulaciones preservadas contienen al menos un preservativo conocido u
 opcionalmente seleccionado de un grupo que consiste de al menos un fenol, m -
 cresol, p - cresol, clorocresol, alcohol bencílico, nitrito de fenilmercurio,
 fenoxietanol, formaldehído, clorobutanol, cloruro de magnesio (e.g., hexahidrato),
 5 alquilparabeno (metil, etil, propil, butil y similares), cloruro de benzalconio, cloruro
 de benzetonio, dehidroacetato de sodio, y timerosal, o mezclas de ellos en un
 diluyente acuoso. Cualquier concentración adecuada o mezcla se puede usar
 como se conoce en el arte, tal como 0,001 - 5%, o cualquier intervalo o valor en él,
 tal como, pero no limitado a 0.001, 0.003, 0.005, 0.009, 0.01, 0.02, 0.03, 0.05,
 10 0.09, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1.0, 1.1, 1.2, 1.3, 1.4, 1.5, 1.6, 1.7,
 1.8, 1.9, 2.0, 2.1, 2.2, 2.3, 2.4, 2.5, 2.6, 2.7, 2.8, 2.9, 3.0, 3.1, 3.2, 3.3, 3.4, 3.5, 3.6,
 3.7, 3.8, 3.9, 4.0, 4.1, 4.2, 4.3, 4.4, 4.5, 4.6, 4.7, 4.8, 4.9 o cualquier intervalo o
 valor en él. Ejemplos no limitantes incluyen, no preservativo, 0.1 - 2% de m -
 cresol (e.g. 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.9, 1.0%) 0.1 - 3% de alcohol bencílico (e.g. 0.5, 0.9,
 15 1.1, 1.5, 1.9, 2.0, 2.5%), 0.001 - 0.5% de timerosal (e.g. 0.005, 0.01), 0.001 - 2%
 de fenol (e.g., 0.05, 0.25, 0.28, 0.5, 0.9, 1.0%), 0.0005 - 1.0% de alquilparabeno
 (s) (e.g. 0.00075, 0.0009, 0.001, 0.002, 0.005, 0.0075, 0.009, 0.01, 0.02, 0.05,
 0.075, 0.09, 0.1, 0.2, 0.3, 0.5, 0.75, 0.9, 1.0%) y similares.

20 Como se indicó antes, la invención proporciona un artículo de manufactura,
 comprendiendo un material de empaque y por lo menos un vial que comprende
 una solución de por lo menos un cuerpo mimético EPO mimética CH1 suprimida, o
 porción especificada o variante con los amortiguadores prescritos y/o

preservativos, opcionalmente en un diluyente acuoso, donde dicho material de empaque comprende un rótulo que indica que tal solución puede mantenerse durante un período de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 9, 12, 18, 20, 24, 30, 36, 40, 48, 54, 60, 66, 72 horas o más. La invención además comprende un artículo de manufactura que comprende material de empaque. Un primer vial que comprende que comprende liofilizado al menos un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o porción especificada o variante y un segundo vial que comprende un diluyente acuoso de un amortiguador prescrito o preservativo donde dicho material de empaque comprende una marca que instruye al paciente para reconstituir el cuerpo mimético de EPO mimética CH1 Suprimida o porción especificada o variante en el diluyente acuoso para formar una solución que se puede mantener durante un período de 24 horas o más.

El cuerpo mimético de EPO mimética CH1 Suprimida o porción especificada o variante utilizada de acuerdo con la presente invención se puede producir por medios recombinantes incluyendo preparaciones transgénicas o células de mamíferos, o se pueden purificar de fuentes biológicas como se describe aquí o como se conoce en el arte.

El intervalo de cantidades de por lo menos un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 Suprimida o porción especificada o variante en el producto de la presente invención incluye cantidades de rendimiento sobre la reconstitución, si está en un sistema húmedo/seco, las concentraciones de cerca de 1.0 µg/mL

hasta cerca de 1000 mg/mL, sin embargo concentraciones más altas o más bajas son operables y dependientes de la intención de entrega del vehículo, e.g., las formulaciones en solución diferirán desde parches transdérmicos, pulmonares, transmucosa, u osmótica o métodos de microbomba.

5

Preferiblemente, el diluyente acuoso además opcionalmente comprende un preservativo aceptable farmacéuticamente. Este se incluye de los seleccionados de un grupo que consiste de fenol, m-cresol, p-cresol, o-cresol, clorocresol, alcohol bencílico, alquilparabeno (metil, etil, propil, butil y similares), cloruro de benzalconio, cloruro de benzetonio, dehidroacetato de sodio timerosal, o mezclas de ellos. La concentración de preservativo usada en la formulación es suficiente para producir efecto antimicrobiano. Tales concentraciones dependen del preservativo escogido y se determinan fácilmente por alguien versado en el arte.

15 Otros excipientes e.g., agentes isotónicos, amortiguadores, anti-oxidantes, mejoradores de preservativo se pueden adicionar opcional y preferiblemente al diluyente. Un agente isotónico como glicerina comúnmente se usa en concentraciones conocidas. El amortiguador tolerado fisiológicamente se añade preferiblemente para mejorar el control de pH. Las formulaciones pueden estar en
20 un amplio rango de pHs tal como desde cerca de pH 4 a cerca de pH 10, intervalos preferidos desde cerca de pH 5 a cerca de pH 9 y en un intervalo más preferido de cerca de 6.0 a cerca de 8.0. Preferiblemente las formulaciones de la presente invención tienen un pH entre cerca de 6.8 y cerca de 7.8. Los

amortiguadores preferidos incluyen los de fosfato, más preferiblemente fosfato sódico, particularmente salina amortiguada de fosfato (PBS).

Otros aditivos tales como solubilizadores aceptables farmacéuticamente como Tween 20 (polioxietilen (20) sorbitan monolaurato), Tween 40 (polioxietilen (20) sorbitan monopalmitato), Tween 80 (polioxietilen (20) sobitan monooleato), Pluronic®68 (polioxietilen polioxipropilen bloque de copolímeros), y PEG (polietilen glicol) o surfactantes no iónicos tales como polisorbato 20 u 80 o poloxamero 184 o 188, plurónico® polis, otro bloque de copolímeros y quelantes tal como EDTA y EGTA se pueden adicionar opcionalmente a las formulaciones o composiciones para reducir la agregación. Estos aditivos son útiles particularmente si se usa una bomba o un recipiente plástico para administrar la formulación. La presencia de surfactantes aceptables farmacéuticamente mitiga la propensión de la proteína a agregarse.

Las formulaciones de la presente invención se pueden preparar por un proceso que comprende mezclar por lo menos un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida porción especificada o variante y un preservativo seleccionado de un grupo que consiste de fenol, m-cresol, p-cresol, o-cresol, clorocresol, alcohol bencílico, alquilparabeno (metil, etil, propil, butil y similares), cloruro de benzalconio, cloruro de benzetonio, dehidroacetato de sodio timerosal, o mezclas de ellos en un diluyente acuoso. La mezcla de por lo menos un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o porción especificada o variante y un

preservativo en un diluyente acuoso se lleva a cabo usando una solución convencional y procedimientos de mezcla. Para preparar una formulación adecuada, por ejemplo, una cantidad medida de por lo menos un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 Suprimida o porción especificada o variante en solución

5 amortiguada se combina con el preservativo deseado en una solución amortiguadora en cantidades suficientes para proporcionar la proteína y el preservativo en las concentraciones deseadas. Las variaciones de este proceso deberán ser reconocidas de ordinario por alguien versado en el arte. Por ejemplo,

10 temperatura y el pH a los cuales se prepara la formulación, son todos los factores que se pueden optimizar para la concentración y medios de administración usados.

Las formulaciones reivindicadas se pueden proporcionar a los pacientes

15 como soluciones claras o como viales duales que comprenden un vial de un liofilizado al menos un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o porción especificada o variante que se reconstituye con un segundo vial que contiene agua, un preservativo y/o excipientes, preferiblemente un amortiguador de fosfato y/o salina y una sal escogida en un diluyente acuoso. Ya sea un vial de solución

20 sencilla o vial dual requiere reconstitución para que se pueda reusar múltiples veces y puede ser suficiente para un ciclo sencillo o múltiples del tratamiento del paciente y puede proporcionar un régimen de tratamiento más conveniente que el disponible actualmente.

La presente reivindica artículos de manufactura que son útiles para administración en un período de inmediatamente hasta 24 horas o más. En consecuencia, los artículos reivindicados actualmente ofrecen ventajas significativas al paciente. Las formulaciones de la invención se pueden opcionalmente almacenar de manera segura a temperaturas desde cerca de 2 a cerca de 40° C y retener la actividad biológica de la proteína por períodos extendidos de tiempo, y entonces permitir una etiqueta de empaque que indica que la solución se puede mantener y/o usar en un período de 6, 12, 18, 24, 36, 48, 72 o 96 horas o mayor. Si se usa el diluyente preservado, tal etiqueta puede incluir el uso hasta por lo menos uno de 1-12 meses, medio, uno y medio, y/o 2 años.

Las soluciones de al menos un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o porción especificada o variante en la invención se puede preparar por un proceso que comprende mezclar por lo menos un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o porción especificada o variante en un diluyente acuoso. El mezclado se lleva a cabo utilizando solución convencional y procesos de mezclado. Para preparar el diluyente adecuado, por ejemplo, una cantidad medida de al menos un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 Suprimida o porción especificada o variante en agua o amortiguador se combinan en cantidades suficientes para proporcionar la proteína y opcionalmente un preservativo o un amortiguador en las concentraciones deseadas. Las variaciones de este proceso las reconocerá un persona versada en el arte. Por ejemplo, el orden de la adición

de los componentes, si se usan aditivos adicionales, la temperatura y el pH al cual se prepara la formulación son todos factores que se pueden optimizar para la concentración y medios de administración utilizados.

5 Los productos reivindicados se pueden proporcionar a pacientes como soluciones claras o como viales duales que comprenden un vial de liofilizado al menos de un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o porción especificada o variante que se reconstituye con un segundo vial que contiene el diluyente acuoso. Ya sea un vial de solución única o un vial dual, que requiere la reconstitución para poder ser reusado múltiples veces y puede ser suficiente para ciclos únicos o múltiples del tratamiento del paciente y así proporciona un régimen de tratamiento más conveniente que el disponible actualmente.

Los productos reivindicados se pueden proporcionar indirectamente a pacientes, proporcionando a farmacias, clínicas y otras de tales instituciones y facilidades, soluciones claras o viales duales que comprenden un vial de liofilizado de por lo menos un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o porción especificada o variante que se reconstituye con un segundo vial que contiene el diluyente acuoso. La solución clara en este caso puede ser de un tamaño hasta de un litro o más grande, proporcionando un reservorio grande a partir del cual, porciones más pequeñas de la solución de un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o porción especificada o variante pueden ser recuperadas una o

múltiples veces para transferir en viales más pequeños y proporcionados por la farmacia o clínica a sus consumidores o pacientes.

Los dispositivos reconocidos que comprenden estos sistemas de vial único incluyen aquellos dispositivos inyectoros de pluma para la entrega de una solución tales como Humaject®, NovoPen®, B-D®Pen, AutoPen®, y OptiPen®. Los dispositivos reconocidos que comprenden un sistema vial dual incluyen aquellos sistemas inyectoros de pluma para reconstituir un medicamento liofilizado en un cartucho para la entrega de la solución reconstituida tal como el HumatroPen®.

10

Los productos actualmente reivindicados incluyen material de empaque. El material de empaque proporciona , además de la información requerida por las agencias reguladoras, las condiciones bajo las cuales el producto se puede usar. El material de empaque de la presente invención, proporciona instrucciones al paciente para reconstituir por lo menos un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o porción especificada o variante en el diluyente acuoso para formar una solución y para usar la solución en un período de 2 a 24 horas o mayor para el vial 2, del producto húmedo/seco. Para el vial único, el producto solución, la marca indica que tal solución se puede usar por un período de 2 a 24 horas o mayor. Los productos reivindicados actualmente son útiles para uso en productos farmacéuticos para humanos.

15

20

Las formulaciones de la presente invención se pueden preparar por un proceso que comprende mezclar por lo menos un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o porción especificada o variante y un amortiguador seleccionado, preferiblemente un amortiguador de fosfato que contiene salina o una sal escogida. La mezcla del por lo menos un cuerpo mimético de EPO
5 mimética CH1 suprimida o porción especificada o variante y el amortiguador en un diluyente acuoso se lleva a cabo utilizando procedimientos de disolución y mezclado convencionales. Para preparar una formulación adecuada, por ejemplo, una cantidad medida de por lo menos un cuerpo mimético de EPO mimética CH1
10 suprimida o porción especificada o variante en agua o amortiguador se combina con el agente de amortiguamiento deseado en agua, en cantidades suficientes para proporcionar la proteína y el amortiguador a las concentraciones deseadas. Las variaciones de este proceso serán reconocidas por alguien versado en el arte. Por ejemplo, el orden en que los componentes son agregados, si se usan aditivos
15 adicionales, la temperatura y el pH a los cuales la formulación se prepara son todos factores que se pueden optimizar para la concentración y el medio de administración utilizada.

Las formulaciones reivindicadas estables o preservadas pueden ser
20 proporcionadas a los pacientes como soluciones claras o como viales duales que comprenden un vial de liofilizado de por lo menos un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o porción especificada o variante que se reconstituye con un segundo vial que contiene un preservativo o un amortiguador y excipientes en

un diluyente acuoso. Ya sea un vial de solución única o un vial dual que requiere reconstitución para poder ser reusado múltiples veces y poder ser suficiente para un único o múltiples ciclos del tratamiento del paciente y así proporcionar un régimen de tratamiento más conveniente que el disponible actualmente.

5

Al menos un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o porción especificada o variante en ya sea las formulaciones estables o preservadas o soluciones aquí descritas, se pueden administrar a un paciente en concordancia con la presente invención vía una variedad de métodos de entrega que incluyen inyección SC o IM; transdérmica, pulmonar, transmucosal, implante, bomba osmótica, cartucho, microbomba, u otros medios apreciados por el artesano versado, como es bien conocido en el arte.

10

Aplicaciones Terapéuticas

15

También, la presente invención para cuerpos miméticos, proporciona un método para la modulación o el tratamiento de anemia, en una célula, tejido, órgano, animal o paciente, que incluye, pero no se limita a, al menos una de cualquiera de anemia, anemia relacionada con el tratamiento del cáncer, anemia relacionada con radioterapia o quimioterapia, anemia relacionada con el tratamiento de infección viral o bacterial, anemia renal, anemia prematura, anemia asociada con cáncer pediátrico y/o adulto, anemia asociada con linfoma, mieloma, mieloma múltiple, anemia asociada con el SIDA, tratamiento concomitante para

20

pacientes con o sin donación sanguínea autóloga que espera cirugía selectiva, preoperatorio y post- operatorio para cirugía, donación o transfusión sanguínea autóloga, manejo perioperatorio, neutropenia cíclica o síndrome de Kostmann (agranulocitosis congénita), enfermedad renal de estado terminal, anemia asociada con diálisis, insuficiencia renal crónica, enfermedades hemopoyéticas primarias, tales como anemia hipoplástica congénita, talasemia principal, o enfermedad de célula falciforme, complicaciones oclusivas del vaso de la enfermedad de célula falciforme. Furman et al., Pediatrics 1992; 90: 716-728, Goldberg Science. 1988; 242: 1412-1415; Paul et al., Exp. Hematol. 1984; 12:825-830; Erslev et al., Arch Intern Med. 1968; 122: 230-235; Ersley et al., Ann Clin Lab Sci. 1980; 10: 250-257; Jacobs et al., Nature, 1985; 313: 806-810; Lin et al., Proc Natl Acad Sci USA. 1985; 82: 7580-7584; Law et al., Proc Natl Acad Sci USA., 1986; 83: 8920-8924; Goldwasser et al., J. Biol Chem. 1974; 249:4202-4206; Eaves et al., Blood. 1978; 52: 1196-1210; Sawyer et al., Blood. 1989; 74: 103-109; Winearls et al., Lancet. 1986; 2: 1175-1178; Eschbach y otros., N. Engl J. Med. 1987; 316: 73-78; Eschbach et al., Ann Intern Med. 1989, 111: 992-1000, cada mención incorporada aquí completamente como referencia.

Los cuerpos miméticos de la presente invención también pueden ser utilizados para formas no renales de anemia inducida, por ejemplo, se han reportado para infecciones crónicas, procesos inflamatorios, terapia de radiación y tratamiento con medicamentos citostáticos y que favorecen resultados en pacientes con anemia no renal. Véase e.g., Abels RI y Rudnick SA Erythropoietin:

involving clinical applications; *Experimental Hematology* 19: 842:50 (1991); Graber SE y Krantz SB Erythropoietin: biology and clinical use. *Hematology/Oncol. Clin North Amer.* 3: 389-400 (1989); Jelkman W and Gross AJ (eds) Erythropoietin. Springer, Berlin 1989; Koury MJ y Bondurant MC, The molecular mechanism of erythropoietin action. *European Journal of Biochemistry* 210: 649-63 (1992); Krantz SB Erythropoietin. *Blood* 77: 419-34 (1991); Tabbara IA Erythropoietin. Biology and clinical applications. *Archives of Internal Medicine* 153: 298-304 (1993), cada mención incorporada aquí completamente como referencia.

10 La presente invención también proporciona un método para la modulación o tratamiento de una anemia o condición relacionada con células sanguíneas, en una célula, tejido, órgano, animal o paciente, en donde dicha anemia o condición relacionada con células sanguíneas, está asociada con al menos uno que incluye, pero no se limita a, al menos una de las enfermedades inmunológicas
15 relacionadas, enfermedad cardiovascular, infecciones, enfermedad maligna y/o neurológica. Tal método opcionalmente puede comprender la administración de una cantidad efectiva de al menos una composición o composición farmacéutica que comprende al menos un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o una porción especificada o variante a una célula, tejido, animal o paciente que
20 requiere de tal modulación, tratamiento o terapia.

La presente invención también proporciona un método para la modulación o tratamiento de cáncer/enfermedad infecciosa en una célula, tejido, órgano, animal

o paciente, que incluyen, pero no se limitan a, al menos una de las infecciones agudas o bacteriales crónicas, procesos infecciosos o parasitarios agudos y crónicos, que incluyen infecciones bacteriales, virales y por hongos, infección del HIV/neuropatía del HIV, meningitis, hepatitis, artritis séptica, peritonitis, neumonía, epiglotitis, E. coli O 157:h7, síndrome urémico hemolítico/púrpura trombocitopénica trombótica, malaria, dengue hemorrágico, fiebre, leishmaniasis, lepra, síndrome de choque tóxico, miositis estreptocócica, gangrena gaseosa, tuberculosis de mycobacterium, mycobacterium avium intracelular, neumonía de carinii neumocística, enfermedad inflamatoria pélvica, orquitis/epididimitis, legionela, enfermedad de Lyme, influenza a, virus de epstein-barr, síndrome hemafagocítico vital asociado, encefalitis vital/meningitis aséptica y similares; (ii) leucemia, leucemia aguda, leucemia linfoblástica aguda (ALL), célula B, célula T ó FAB ALL, leucemia mieloidea aguda (AML), leucemia mielocítica crónica (CML), leucemia linfocítica crónica (CLL), leucemia de célula con pelo, síndrome mielodiplástico (MSD), un linfoma, enfermedad de Hodgkin, un linfoma maligno, linfoma no de Hodgkin, linfoma de Burkitt, mieloma múltiple, sarcoma de Kaposi, carcinoma colorrectal, carcinoma pancreático, carcinoma nasofaríngeo, histiocitosis maligno, síndrome paraneoplástico/hipercalcemia de malignidad, tumores sólidos, adenocarcinomas, sarcomas, melanoma maligno y similares; ó (iii) enfermedades neurodegenerativas, esclerosis múltiple, dolor de cabeza de migraña, complejo de demencia por SIDA, enfermedades de desmielinación, tales como esclerosis múltiple y mielitis transversa aguda; trastornos extrapiramidales y cerebrales tales como lesiones del sistema corticoespinal; trastornos de los ganglios basales o

trastornos cerebrales; trastornos del movimiento hiperkinético tales como corea de Huntington y corea senil; trastornos del movimiento inducidos por medicamentos, tales como aquellos inducidos por medicamentos, los cuales bloquean los receptores dopamínicos CNS; trastornos del movimiento hipocinético, tales como

5 la enfermedad de Parkinson; parálisis de supranúcleo progresiva; lesiones estructurales del cerebelo; degeneraciones del espinocerebelo, tales como ataxia espinal, ataxia de Friedreich, degeneraciones corticales del cerebelo, degeneraciones de sistemas múltiples (Mencel, Dejerine-Thomas, Shi-Drager y Machado-Joseph); trastornos sistémicos (enfermedad de Refsum,

10 abetalipoproteemia, ataxia, telangiectasia y trastorno de sistema múltiple mitocondrial); trastorno desmielinación del núcleo, tal como esclerosis múltiple, mielitis transversa aguda; y trastornos de la unidad motora, tal como atrofas musculares neurológicas (degeneración de la célula de Asta anterior, tal como esclerosis lateral amiotrófica, atrofia muscular espinal infantil y atrofia muscular

15 espinal juvenil); enfermedad de Alzheimer, Síndrome de Down en edad intermedia; enfermedad del cuerpo de Lewy Difusa; Demencia Senil del tipo del corpote Lewy; Síndrome de Wernicke-Korsakoff; alcoholismo crónico; enfermedad de Creutzfeld-Jakob; panencefalitis esclerosante subaguda, enfermedad de Hallerorden-Spatz; y Demencia pugilística y similares. Tal método

20 opcionalmente puede comprender la administración de una cantidad efectiva de una composición o composición farmacéutica que comprende al menos un anticuerpo de TNF o porción especificada o variante a una célula, tejido, órgano,

animal o paciente que requiere de tal modulación, tratamiento o terapia. Véase, e.g., the Merck Manual, 16th Edition, Merck & Company, Rahway, NJ (1992).

Tal método opcionalmente puede comprender la administración de una
 5 cantidad efectiva de al menos una composición o composición farmacéutica que comprende al menos un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o porción especificada o variante a una célula, tejido, órgano, animal o paciente que requiere de tal modulación, tratamiento o terapia.

10 La presente invención también proporciona un método para la modulación o tratamiento de al menos una enfermedad cardiovascular en una célula, tejido, órgano, animal o paciente, que incluye, pero no se limita a, al menos uno de síndrome de atrofia cardíaca, infarto del miocardio, disfunción congestiva cardíaca, apoplejía, apoplejía isquémica, hemorragia, arterosclerosis, arterosclerosis,
 15 enfermedad arteriosclerótica diabética, hipertensión, hipertensión arterial, hipertensión renovascular, síncope, choque, sífilis del sistema cardiovascular, disfunción cardíaca, cor pulmonar, hipertensión pulmonar primaria, arritmias cardíacas, golpes ectópicos auriculares, trepidación auricular, fibrilación auricular (sostenida o paroxismal), taquicardia auricular caótica o multifocal, taquicardia
 20 QRS estrecha regular, arritmias específicas, fibrilación ventricular, arritmias del Haz de His, bloqueo auriventricular, bloqueo de la ramificación del Haz, trastornos isquémicos del miocardio, enfermedad de la arteria coronaria, angina pectoral, infarto del miocardio, cardiomiopatía, cardiomiopatía congestiva dilatada,

cardiomiopatía restrictiva, enfermedades de la válvula del corazón, endocarditis ,
 enfermedad pericardial, tumores cardíacos, aneurismas aórticas y periféricas,
 disección aórtica, inflamación de la aorta, oclusión de la aorta abdominal y sus
 ramificaciones, trastornos vasculares periféricos, trastornos arteriales oclusivos,
 5 enfermedad ateriosclerótica periférica, tromboangitis obliterante, trastornos
 arteriales periféricos funcionales, fenómeno y enfermedad de Raynaud,
 acrocianosis, eritromelalgia, enfermedades venosas, trombosis venosas, venas
 varicosas, fístula arteriovenosa, linfedema, angina inestable, daño de reperfusión,
 síndrome de pos-bomba, daño de reperfusión con isquemia y similares. Tal
 10 método, opcionalmente puede comprender la administración de una cantidad
 efectiva de una composición o composición farmacéutica que comprende al
 menos un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o porción
 especificada o variante a una célula, tejido, órgano, animal o paciente que requiere
 de tal modulación, tratamiento o terapia.

15 Cualquier método de la presente invención puede comprender la
 administración de una cantidad efectiva de una composición o composición
 farmacéutica que comprende al menos un cuerpo mimético de EPO mimética CH1
 suprimida o porción especificada o variante a una célula, tejido, órgano, animal o
 paciente que requiere de tal modulación, tratamiento o terapia. Tal método,
 20 opcionalmente puede además comprender la co-administración o terapia de
 combinación para el tratamiento de tales enfermedades inmunológicas, en donde
 la administración de dicho al menos un cuerpo mimético de EPO mimética CH1
 suprimida, porción especificada o variante del mismo, además comprende la

administración, antes concurrentemente, y/o después de, al menos uno
seleccionado de al menos un antagonista de TNF (e.g., pero no se limita a
anticuerpo o fragmento de TNF, un receptor o fragmento de TNF soluble,
proteínas fusionadas del mismo, o un antagonista de TNF de molécula pequeña),
5 un antirreumático, un relajante muscular, un narcótico, un medicamento anti-
inflamatorio no esteroidal (NSAID), un analgésico, un anestésico, un sedante, un
anestésico local, un bloqueador neuromuscular, un antimicrobiano (e.g.,
aminoglicósido, un antifúngico, un antiparasitario, un antiviral, un carbapenem,
cefalosporina, una flurorquinolona, un macrólido, una penicilina, una sulfonamida,
10 una tetraciclina, otro antimicrobiano), un anti-psoriático, un corticosteroide, un
esteroide anabólico, un agente relacionado con la diabetes, un mineral, un
nutricional, un agente tiroideo, una vitamina, una hormona relacionada con el
calcio, un anti-diarréico, un antitusivo, un antiemético, un antiulceroso, un laxante,
un anticoagulante, un eritropoyetina (e.g., epoetina alfa), un filgrastim (e.g., G-
15 CSF, Neupogen), una sargramostima (GM-CFS, Leucina), una inmunización, una
inmunoglobulina, un inmunosupresor (e.g., basiliximab, ciclosporina, daclizumab),
una hormona de crecimiento, una hormona que reemplaza un medicamento, un
modulador del receptor de estrógeno, un midriático, una cicloplégica, un agente
alquilante, un antimetabolito, un inhibidor mitótico, un radiofarmacéutico, un
20 antidepresivo, un agente antimaniaco, un antipsicótico, un ansiolítico, un hipnótico,
un sinpatomimético, un estimulante, denepezil, tractina, un medicamento para el
asma, un agonista beta, un esteroide inhalado, un inhibidor de luecotrieno, una
metilxantina, una cromolina, una epinefrina o análogo, domasa alfa (Pulmozyme),

una citosina o un antagonista de citosina. Son bien conocidas en el arte las dosificaciones adecuadas, Véase e.g., Wells et al., eds., Pharcacotherapy Handbook, 2nd Edition, Appleton and Lange, Stamford, CT (2000); PDR Pharmacopoeia, Tarascon Pocket Pharmacopoeia 2000, Deluxe Edition, Tarascon Publishing, Loma Linda, CA (2000), cada uno de las cuales se incorpora aquí como referencia.

Los cuerpos miméticos también se pueden utilizar ex vivo, tal como cultivo de médula ósea autólogo. Brevemente, se remueve la médula ósea de un paciente antes de la quimioterapia y se trata con TPO y/o EPO, opcionalmente en combinación con cuerpos miméticos, opcionalmente en combinación con uno o más citoquinas adicionales. La médula tratada, luego se devuelve al paciente después de la quimioterapia para acelerar la recuperación de la médula. Adicionalmente, se puede utilizar TPO, solo y en combinación con cuerpos miméticos de EPO y/o EPO, para la expansión ex vivo de la médula o de células progenitoras sanguíneas periféricas (PBPC). Antes del tratamiento de quimioterapia, la médula puede ser estimulada con un factor de célula del tallo (SCF) o G-CSF para liberar prematuramente células del progenitor dentro de la circulación periférica. Estas progenitoras son recolectadas opcionalmente y concentradas a partir de la sangre periférica y luego tratadas en cultivo con TPO y cuerpos miméticos, opcionalmente, en combinación con uno o más otras citoquinas, que incluyen pero no se limitan a SCF, G-CSF, IL-3, GM-CSF, IL-6 ó IL-11, a fin de diferenciar y proliferar en cultivos de megacariocitos de alta

densidad, las cuales opcionalmente luego son devueltas al paciente seguido de la alta dosis de quimioterapia. La dosis de TPO para el tratamiento ex vivo de médula ósea, estará en el intervalo de 100 pg/ml hasta 10 ng/ml, preferiblemente 500 pg/ml hasta 3 ng/ml. Las dosis de cuerpos miméticos serán equivalentes en actividad a la EPO, que pueden ser utilizados desde 0.1 unidades/ ml hasta 20 unidades/ml, preferiblemente, desde 0.5 unidades/ ml hasta 2 unidades / ml, ó cualquier intervalo o valor de ahí.

Los antagonistas de TNF adecuados para las composiciones, terapia de combinación, dispositivos de co-administración, y/o métodos de la presente invención (que además comprende al menos un anticuerpo, porción especificada y variante del mismo, de la presente invención), incluyen, pero no se limitan a, anticuerpos anti-TNF, fragmentos que enlazan ligando del mismo, y moléculas del receptor que se enlazan específicamente a TNF; los compuestos que previenen y/o inhiben la síntesis de TNF, la liberación del TNF o su acción sobre las células objetivo, tales como talidomida, tenidap, inhibidores de fosfodiesterasa (e.g., pentoxifilina y rolipram), agonistas del receptor adenosina A2b y mejoradores del receptor adenosina 2Ab; los compuestos que previenen y/o inhiben la señalización del receptor de TNF, tal como inhibidores de quinasa de la proteína activada mitógena (MAP); los compuestos que bloquean y/o inhiben la degradación del TNF de membrana, tal como inhibidores de metaloproteinasas; los compuestos que bloquean y/o inhiben la actividad del TNF, tal como inhibidores (ACE) de la enzima convertidora de angiotensina (e.g., captopril) y los compuestos que bloquean y/o

inhiben la producción y/o síntesis de TNF, tal como los inhibidores de quinasa MAP.

Tal como se utiliza aquí, un "anticuerpo del factor de necrosis tumoral",
5 "anticuerpo de TNF", "anticuerpo $\text{TNF}\alpha$ " o fragmento y similares, disminuyen, bloquean, inhiben, anulan o interfieren con la actividad del $\text{TNF}\alpha$ *in vitro*, *in situ* y/o preferiblemente *in vivo*. Por ejemplo, un anticuerpo humano de TNF adecuado de la presente invención puede unirse a $\text{TNF}\alpha$ e incluye anticuerpos anti-TNF, fragmentos que enlazan antígeno del mismo, y mutaciones o dominios específicos
10 del mismo que se enlazan específicamente al $\text{TNF}\alpha$. Un anticuerpo o fragmento de TNF adecuado, también puede disminuir bloqueo, disminución, anulación, interferencia, prevenir y/o inhibir el TNF RNA, DNA o la síntesis de proteína, la liberación del TNF, la señalización del receptor de TNF, la degradación del TNF de membrana, la actividad del TNF, la producción y/o la síntesis del TNF.

15

El anticuerpo quimérico cA2 consiste de un antígeno que se enlaza a la región variable de alta afinidad neutralizante del anticuerpo $\text{TNF}\alpha$ IgG1 antihumano de ratón, designado A2, y las regiones constantes de una IgG1 humana, kappa inmunoglobulina. La región Fc de IgG1 humana, mejora la función
20 efectora del anticuerpo alogénico, incrementa la vida media en la circulación en suero y disminuye la inmunogenicidad del anticuerpo. La avidéz y la especificidad del epítopo del anticuerpo quimérico cA2, se deriva de la región variable del

anticuerpo murino A2. En una incorporación particular, una fuente preferida de ácidos nucleicos que codifican la región variable del anticuerpo A2 murino, es la línea celular del hidridoma A2

5 El quimérico A2 (cA2) neutraliza el efecto citotóxico del TNF α natural y del humano recombinante, de una manera dosis dependiente. A partir de los ensayos de unión del anticuerpo quimérico cA2 y TNF α humano recombinante, se calculó la constante de afinidad del anticuerpo quimérico cA2 que es de $1.04 \times 10^{10} \text{ M}^{-1}$. Los métodos preferidos para la determinación de la especificidad del anticuerpo
10 monoclonal y la afinidad mediante la inhibición competitiva, se pueden encontrar en Harlow y otros, *Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, Nueva Cork, 1988; Colligan et al., eds., *Current Protocols in Immunology*, Greene Publishing Assoc. and Wiley Interscience, Nueva Cork, (1992-2002); Kozbor et al., *Immunol. Today*, 4: 72-79
15 (1983); Ausubel y otros, eds., *Current Protocols in Molecular Biology*, Wiley Interscience, Nueva Cork (1987-2002); y Muller, *Meth. Enzymol.* , 92: 589-601 (1983), cuyas menciones se incorporan aquí completamente como referencia.

En una incorporación particular, se produce el anticuerpo A2 monoclonal
20 murino, mediante una línea celular denominada c134A. Se produce el anticuerpo quimérico cA2 mediante una línea celular denominada c168A.

Se describen en el arte , ejemplos adicionales de anticuerpos anti-TNF monoclonales que pueden ser utilizados en la presente invención, Véase e.g., la Patente U.S. No. 5,231,024; Möller, et al., *Citokine* 4(3): 162-169 (1990); Solicitud U.S. No. 07/943,852 (presentada el 11 de septiembre de 1992); Rathjen et al.,
 5 Publicación Internacional No. WO 91/02078 (publicada el 21 de febrero de 1991); Rubin et al., Publicación de Patente EPO No. 0 218 868 (publicada el 22 de abril de 1987); Yone et al., Publicación de Patente EPO No. 0 288 088 (26 de octubre de 1988); Liang et al., *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 137: 847-854 (1986); Meager et al., *Hybridoma* 6: 305-311 (1987); Fendly et al., *Hybridoma* 6: 359-369
 10 (1987); Bringman et al., *Hybridoma* 6: 489-507 (1987); y Irla et al., *J. Immunol. Meth.* 96 57-62 (1987), cuya mención se incorpora aquí completamente como referencia.

Moléculas del receptor de TNF

15 Las moléculas del receptor de TNF preferidas útiles en la presente invención son aquellas que se unen a TNF α con alta afinidad (Véase, e.g., Feldemann et al., Publicación Internacional No. WO 92/07076 publicada el 30 de abril de 1992); Schall et al., *Cell* 61: 361-370 (1990); y Loetscher et al., *Cell* 61: 351-359 (1990), cuya mención se incorpora aquí completamente como referencia.
 20 En particular, los receptores de superficie celular de TNF de 55 kDa (p55 TNF-R) y de 75 kDa (p75 TNF-R), son útiles en la presente invención. Las formas truncadas de estos receptores, que comprenden los dominios extracelulares (ECD) de los

receptores o porciones funcionales de los mismos (Veáse e.g., Corcoran et al.,
Eur. J. Biochem. 233: 831-840 (1994)), también son útiles en la presente
invención. Las formas truncadas de los receptores de TNF, que comprenden la
ECD, se han detectado en la orina o suero como proteínas enlazantes inhibitoras
5 de TNF α de 30 kDa y 40 kDa (Engelmann, H. et al., *J. Biol. Chem.* 265: 1531-
1536 (1990)). Las moléculas multiméricas del receptor de TNF y las moléculas de
fusión del inmunoreceptor de TNF, y derivados y fragmentos o porciones de las
mismas, son ejemplos adicionales de moléculas del receptor de TNF, que son
útiles en los métodos y composiciones de la presente invención. Las moléculas del
10 receptor de TNF que se pueden utilizar en la invención, se caracterizan por su
capacidad para tratar pacientes por periodos extendidos con beneficios para el
alivio excelente de síntomas y baja toxicidad. La baja inmunogenicidad y/o alta
afinidad, como también otras propiedades no definidas, pueden contribuir a los
resultados terapéuticos alcanzados.

15

Las moléculas multiméricas del receptor de TNF útiles en la presente
invención, comprenden toda o una porción funcional del ECD de dos o más
receptores de TNF enlazados por medio de uno o más enlazantes de polipéptido u
otros enlazantes no peptídicos, tal como polietilenglicol (PEG). Las moléculas
20 multiméricas además pueden comprender un péptido-sígnal de una proteína
secretada para la expresión directa de la molécula multimérica. Estas moléculas
multiméricas y métodos para su producción se han descrito en la Solicitud U.S.

No. 08/437,533 (presentada el 9 de mayo de 1995), el contenido de la cual se incorpora aquí completamente como referencia.

Las moléculas de fusión del inmunoreceptor de TNF útiles en los métodos y
5 composiciones de la presente invención, comprenden al menos una porción de
una o más moléculas de inmunoglobulina y toda o una porción funcional de uno o
más receptores de TNF. Estas moléculas de fusión del inmunoreceptor se pueden
ensamblar como monómeros, ó hetero- ú homo-multímeros. Las moléculas de
fusión del inmunoreceptor, también pueden ser monovalentes o multivalentes. Un
10 ejemplo de tal molécula de fusión de inmunoreceptor de TNF es receptor de TNF/
proteína de fusión IgG. Las moléculas de fusión del inmunoreceptor de TNF y
métodos para su producción, se han descrito en el arte (Lesslauer et al., *Eur. J.*
Immunol. 21: 2883-2886 (1991); Ashkenazi et al., *Proc. Natl.Acad. Sci. USA* 88:
10535-10539 (1991); Peppel et al., *J. Exp. Med.* 174: 1483-1489 (1991); Kolls et
15 al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91: 215-219 (1994); Butler et al., *Cytokine* 6(6):
616-623 (1994); Baker et al., *Eur. J. Immunol.* 24: 2040-2048 (1994); Beutler et al.,
Patente U.S. No. 5,447,851; y Solicitud U.S. No. 08/442,133 (presentada el 16 de
mayo de 1995), cada una de las cuales mencionadas se incorporan aquí
completamente como referencia). Los métodos para la producción de moléculas
20 de fusión del inmunoreceptor, también se puede encontrar en Capon et al.,
Patente U.S. No. 5,116,964; Capon et al., Patente U.S. No. 5,225,538; y Capon et
al., *Nature* 337: 525-531 (1989), cuya mención se incorpora aquí completamente
como referencia.

Un equivalente funcional, derivado, fragmento o región de la molécula del receptor de TNF, se refiere a la porción de la molécula del receptor de TNF, o la porción de la secuencia de la molécula del receptor de TNF, la cual codifica la molécula del receptor de TNF, que es del tamaño suficiente y las secuencias para las moléculas del receptor de TNF ensambladas funcionalmente que se pueden utilizar en la presente invención (e.g., enlace de TNF α con alta afinidad y posee baja inmunogenicidad). Un equivalente funcional de la molécula del receptor de TNF, también incluye moléculas del receptor de TNF modificado que funcionalmente ensambla moléculas del receptor de TNF que se pueden utilizar en la presente invención (e.g., enlace de TNF α con alta afinidad y posee baja inmunogenicidad). Por ejemplo, un equivalente funcional de la molécula del receptor de TNF, puede contener un codón "SILENCIOSO" o una o más sustituciones de aminoácido, supresiones o adiciones (e.g., sustitución de un aminoácido ácido por otro aminoácido ácido; o sustitución de un codón que codifica el mismo o diferente aminoácido hidrofóbico por otro codón que codifica un aminoácido hidrofóbico). Véase Ausubel et al., *Current Protocols en Molecular Biology*, Greene Publishing Assoc. and Wiley-Interscience, Nueva Cork (1987-2002).

Las citoquinas incluyen, pero no se limitan a todas las citoquinas conocidas. Véase e.g., CopewithCytokines.com. Los antagonistas de citoquinas incluyen pero

no se limitan a cualquier anticuerpo, fragmento o mimético, cualquier receptor soluble, fragmento o mimético, cualquier antagonista de molécula pequeña o cualquier combinación de los mismos.

5 Cualquier método de la presente invención, puede comprender un método para el tratamiento de un trastorno mediado por proteína, que comprende la administración de una cantidad efectiva de una composición o composición farmacéutica que comprende al menos un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o porción especificada o variante a una célula, tejido, órgano, animal o
10 paciente que requiere de tal modulación, tratamiento o terapia. Opcionalmente, tal método además puede comprender la co-administración o terapia combinada para el tratamiento de tales enfermedades inmunológicas, en donde la administración de dicho, al menos un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida, porción especificada o variante, además comprende la administración, antes
15 concurrentemente, y/o después de, al menos una seleccionada de al menos otra de citoquinas como Il-3, -6 y -11; factor de célula del tallo; G-CSF y GM-CSF.

De manera típica, se afecta el tratamiento de condiciones patológicas, mediante la administración de una cantidad efectiva o dosis de al menos una
20 composición de cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida que en total, en promedio, un intervalo de al menos cerca de 0.01 hasta 500 miligramos de al menos un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o porción especificada o variante/ kilogramo del paciente por dosis, y preferiblemente de al

menos cerca de 0.1 hasta 100 miligramos de cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o porción especificada o variante/kilogramo de paciente por administración sencilla o múltiple, que depende de la actividad específica del contenido en la composición. Alternativamente, la concentración en suero efectiva puede comprender 0.1 – 5000 µg/ml de concentración en suero por administración sencilla o múltiple. Las dosis adecuadas son conocidas por los practicantes de medicina y serán, de hecho, dependientes del estado particular de la enfermedad, de la actividad específica de la composición a ser administrada, y del paciente particular que experimenta el tratamiento. En algunos ejemplos, para alcanzar la cantidad terapéutica deseada, puede ser necesario proporcionar la administración repetida, esto es, administraciones individuales repetidas de una dosis monitoreada particular o medida, donde las administraciones individuales son repetidas hasta que la dosis diaria deseada o efecto son alcanzados.

Opcionalmente, las dosis pueden incluir 0.01, 0.02, 0.03, 0.04, 0.05, 0.06, 0.07, 0.08, 0.09, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28 29, y/o 30 mg/kg/administración, o cualquier intervalo, valor o fracción de la misma, o para alcanzar una concentración en suero de 0.1, 0.5, 0.9, 1.0, 1.1, 1.2, 1.5, 1.9, 2.0 2.5, 2.9, 3.0, 3.5, 3.9, 4.0, 4.5, 4.9, 5.0, 5.5, 5.9, 6.0, 6.5, 6.9, 7.0, 7.5, 7.9, 8.0, 8.5, 8.9, 9.0, 9.5 9.9, 10, 10.5, 10.9, 11, 11.5, 11.9, 20, 12.5, 12.9, 13.0, 13.5, 13.9, 14.0, 14.5, 4.9, 5.0, 5.5, 5.9, 6.0, 6.5, 6.9, 7.0, 7.5, 7.9, 8.0, 8.5, 8.9, 9.0, 9.5, 9.9,

10, 10.5, 10.9, 11, 11.5, 11.9, 12, 12.5, 12.9, 13.0, 13.5, 13.9, 14, 14.5, 15, 15.5, 15.9, 16, 16.5, 16.9, 17, 17.5, 17.9, 18, 18.5, 18.9, 19, 19.5, 19.9, 20, 20.5, 20.9, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 96, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1500, 2000, 2500, 3000, 5 2500, 4000, 4500, y/o 5000 µg/ml de concentración en suero por administración sencilla o múltiple, o cualquier intervalo, valor o fracción de la misma.

Alternativamente, la dosis administrada puede variar al depender de factores conocidos, tales como las características farmacodinámicas del agente particular, su modo y ruta de administración; la edad, salud y peso del recipiente; 10 la naturaleza y grado de los síntomas, la clase de tratamiento concurrente, la frecuencia del tratamiento y el efecto deseado. Normalmente, una dosis del ingrediente activo puede ser cerca de 0.1 hasta 1000 miligramos por kilogramo del peso corporal. Comúnmente, es efectiva de 0.1 hasta 50, y preferiblemente 0.1 15 hasta 10 miligramos por kilogramo por administración o en forma de liberación sostenida a fin de obtener resultados deseados.

Según un ejemplo no limitante, se puede proporcionar el tratamiento de humanos o animales, como una dosis de una vez o periódica de al menos un 20 cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o porción especificada o variante de la presente invención 0.01 hasta 100 mg/kg, tal como 0.5, 0.9, 1.0, 1.1, 1.5, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24,

25, 26, 27, 28, 29, 30, 40, 45, 50, 60, 70, 80, 90 ó 100 mg/kg por día, en al menos uno del día 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39 ó 40 ó alternativamente, al menos una semana de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 ó 20, o cualquier combinación de las mismas, mediante el uso de dosis sencillas, infusión o repetidas.

Las formas de dosis (composición) adecuadas para la administración interna, generalmente contienen desde cerca de 0.0001 miligramos hasta cerca de 500 miligramos del ingrediente activo por unidad o por recipiente. En estas composiciones farmacéuticas, el ingrediente activo estará presente de manera común en una cantidad de cerca de 0.5 a 95% en peso basado en el peso total de la composición.

Se puede formular para administración parenteral el cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida, como una solución, suspensión, emulsión o polvo liofilizado, en asocio, ó separadamente proporcionado con un vehículo parenteral farmacéuticamente aceptable. Los ejemplos de tales vehículos son agua, solución salina, solución de Ringer, solución de dextrosa y albúmina de suero humano al 5%. También se pueden utilizar los liposomas y vehículos no acuosos tales como aceites. El vehículo o polvo liofilizado, puede contener aditivos que mantienen la isotonicidad (e.g., cloruro de sodio, manitol) y estabilidad química (e.g.,

amortiguadores y preservativos). Se esteriliza la formulación mediante técnicas conocidas o adecuadas.

Se describen los portadores farmacéuticamente adecuados en la edición
5 más reciente de la Remington's Pharmaceutical sciences, A. Osol, un texto de referencia en este campo.

Administración Terapéutica

Se pueden utilizar muchos modos conocidos y desarrollados, de acuerdo
10 con la presente invención para la administración de cantidades farmacéuticamente efectivas de al menos un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o porción especificada o variante de acuerdo con la presente invención. En tanto que se utiliza la administración pulmonar en la siguiente descripción, se pueden utilizar otros modos de administración de acuerdo con la presente invención con
15 resultados adecuados.

Se puede suministrar un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida de la presente invención en un portador, como una solución, emulsión, coloide, o suspensión, o como un polvo, mediante el uso de cualquiera de una variedad de
20 dispositivos y métodos adecuados para la administración por inhalación u otros métodos descritos aquí dentro o conocidos en el arte .

Administración y Formulaciones Parenterales

Las formulaciones para la administración parenteral pueden contener como excipientes comunes agua o solución salina estéril, polialquilenglicoles, tal como polietilenglicol, aceites de origen vegetal, naftalenos hidrogenados y similares. Se pueden preparar suspensiones acuosas u oleosas para inyección, mediante el uso de un emulsificante o humidificador apropiado y un agente de suspensión, de acuerdo con métodos conocidos. Los agentes para inyección pueden ser agentes diluyentes no tóxicos, de administración no oral tal como soluciones acuosas o soluciones inyectables estériles o suspensión en un solvente. Según el vehículo o utilizable son permitidos: solvente, agua, solución de Ringer, solución salina isotónica, etc; como un solvente común, o solvente de suspensión, se puede utilizar aceite estéril no volátil. Para estos propósitos, se puede incluir cualquier clase de aceite o ácido graso no volátil, que incluye aceites grasos o ácido grasos naturales o sintéticos o semisintéticos; mono- ó di- ó tri glicéridos naturales o sintéticos o semisintéticos. La administración parenteral es conocida en el arte e incluye, pero no se limita a medios convencionales de inyecciones, dispositivo de inyección sin agua de gas presurizado como se describe en la Pat. U.S. No. 5,851,198, y un dispositivo de perforación láser como se describe en la Pat. U.S. No. 5,839,446 incorporadas aquí completamente como referencia.

20

Suministro Alternativo

La invención además se refiere a la administración de al menos un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o porción especificada o variante, por

medios parenteral, subcutáneo, intramuscular, intravenoso, bolo, vaginal, rectal, bucal, sublingual, intranasal o transdérmico. La proteína, composiciones de cuerpo mimético suprimido de la CH1 mimético de EPO o porción especificada o variante, se pueden preparar para el uso en administración parenteral (subcutánea, 5 intramuscular o intravenosa), particularmente en la forma de soluciones líquidas o suspensiones; para el uso en la administración vaginal o rectal, particularmente en formas semisólidas tal como cremas y supositorios; para la administración bucal o sublingual, particularmente en la forma de tabletas o cápsulas; o intranasal, particularmente en la forma de polvos, gotas nasales o aerosoles o ciertos 10 agentes; o transdérmica, particularmente en la forma de un gel, ungüento, loción, suspensión o sistema de suministro de parche, con mejoradores químicos tal como dimetilsulfóxido para modificar la estructura de la piel o incrementar la concentración del medicamento en el parche transdérmico (Junginger et al., en "Drug Permeation Enhancement"; Hsieh, D. S., Eds., pp. 59-90 (Marcel Dekker, 15 Inc. Nueva Cork, 1994, incorporadas aquí completamente como referencias), o con agentes oxidantes que facilitan la aplicación de las formulaciones que contienen proteínas y péptidos en la piel (WO 98/53847), o aplicaciones de campos eléctricos para crear rutas de transporte transitorio tal como electroporación, o para incrementar la movilidad de los medicamentos cargados a 20 través de la piel tal como ionoforesis, o la aplicación de ultrasonido tal como sonoforesis (Pat. U.S. Nos. 4,309,989 y 4,767,402, las anteriores publicaciones y patentes que son incorporadas aquí completamente como referencia).

Administración Pulmonar/Nasal

Preferiblemente, para la administración pulmonar, al menos una composición de un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o porción especificada o variante, se suministra en un tamaño de partícula efectivo para

5 alcanzar las vías aéreas inferiores del pulmón o los senos. De acuerdo con la invención, al menos un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o porción especificada o variante, se puede suministrar mediante cualquiera de una variedad de dispositivos de inhalación o nasales conocidos en el arte para la administración de un agente terapéutico por inhalación. Estos dispositivos facilitan

10 el depósito de formulaciones en aerosol en la cavidad de los senos o alvéolos de un paciente, incluyen inhaladores de dosis medida, nebulizadores, generadores de polvo seco, atomizadores y similares, son bien conocidos en el arte, otros dispositivos adecuados para dirigir la administración pulmonar o nasal del cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o porción especificada o variantes.

15 Todos estos dispositivos pueden utilizar las formulaciones adecuadas para la administración, para la aplicación del cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o porción especificada o variante en un aerosol. Tales aerosoles pueden ser comprimidos de soluciones (tanto acuosas y no acuosas) o de partículas sólidas. Los inhaladores de dosis medida como el inhalador de dosis medida

20 Ventolin®, típicamente utiliza un gas propelente y requiere el accionamiento durante la inspiración (Veáse, e.g., WO 94/16970, WO 98/35888). Los inhaladores de polvo seco como Turbuhaler® (Astra), Rotahaler® (Glaxo), Diskus® (Glaxo), inhalador Spiros™ (Dura), dispositivos comercializados por Inhale Therapeutics, y

el inhalador de polvo Spinhaler® (Fisions), utilizan accionamiento por respiración de un polvo mezclado (US 4668218 Astra, EP 237507 Astra, WO 97/25086 Glaxo, WO 94/08552 Dura, Us 5458135 Inhale, WO 94/06498 Fisions, incorporadas aquí completamente como referencias). Nebulizadores como AERz™ Aradigm, el

5 nebulizador Ultravent® (Mallinckrodt) y el nebulizador Acom II® (Marquest Medical Products) (US 5404871 Aradigm, WO 97/22376), las anteriores menciones incorporadas aquí completamente como referencias, producen aerosoles a partir de soluciones, en tanto que los inhaladores de dosis medida, inhaladores de polvo seco, etc., generan aerosoles de partículas pequeñas. Estos ejemplos específicos

10 de dispositivos de inhalación comercialmente disponibles tienen el propósito de ser representativos de dispositivos específicos adecuados para la práctica de esta invención y no tienen el propósito de limitar el alcance de la invención. Preferiblemente, una composición que comprende al menos un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o porción especificada o variante, se suministra

15 mediante un inhalador de polvo seco o un atomizador. Existen varias características deseables de un dispositivo de inhalación para la administración de al menos un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o porción especificada o variante de la presente invención. Por ejemplo, el suministro mediante el dispositivo de inhalación es ventajosamente seguro, reproducible y

20 preciso. Opcionalmente, el dispositivo de inhalación puede suministrar partículas pequeñas, e.g., menores que cerca de 10 µm, de preferencia, cerca de 1 a 5 µm, a fin de una buena capacidad de respiración.

Administración de Composiciones de cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o porción especificada o variante, como un atomizador.

Un atomizador incluye la proteína de composición del cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o porción especificada o variante que puede ser producida por forzamiento de una suspensión o solución de al menos un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o porción especificada o variante a través de una boquilla bajo presión. El tamaño de la boquilla y la configuración, la presión aplicada, la velocidad de alimentación del líquido, se pueden escoger para alcanzar la salida deseada y el tamaño de partícula. Se puede producir un electroatomizador, por ejemplo, mediante un campo eléctrico en conexión con una alimentación capilar o por boquilla. Ventajosamente, las partículas de al menos una composición de proteína de cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o porción especificada o variante, suministrada mediante un atomizador, tiene un tamaño de partícula menor que cerca de 10 μm , preferiblemente en el intervalo de cerca de 1 μm hasta cerca de 5 μm , y más de preferencia cerca de 2 μm hasta cerca de 3 μm .

Las formulaciones de composición de proteína de cuerpo mimético suprimido de la HC1 mimética de EPO o porción especificada o variante adecuada para el uso con un atomizador, incluye típicamente composición de proteína de cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o porción especificada o

variante en una solución acuosa en una concentración de cerca de 1 mg hasta cerca de 20 mg de al menos una composición de proteína de cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o porción especificada o variante por ml de solución. La formulación puede incluir agentes tal como un excipiente, un amortiguador, un agente de isotonicidad, un preservante, un surfactante y preferiblemente, zinc. La formulación también puede incluir un excipiente o agente para la estabilización de la composición de proteína de cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o porción especificada o variante, tal como un amortiguador, un agente reductor, una proteína en masa o un carbohidrato. Las proteínas de masa útiles en la formulación de la composición de proteína de cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o porción especificada o variante, incluyen albúminas, protamina, o similares. Los carbohidratos típicos útiles en la formulación de la composición de proteínas de cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o porción especificada o variante, incluye sucrosa, manitol, lactosa, trealosa, glucosa, o similares. La formulación de composición de proteína de cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o porción especificada o variante, también puede incluir un surfactante, el cual puede reducir o prevenir la agregación inducida en la superficie de la composición de proteína de cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida causada por la atomización de la solución en la formación de un aerosol.

Se pueden emplear varios surfactantes convencionales, tal como ésteres de ácido graso de polioxietileno y alcoholes, y ésteres de ácidos grasos de sorbitol de

polioxietileno. Las cantidades oscilaran generalmente entre 0.001 y 14% en peso de la formulación. En especial, los surfactantes preferidos para los propósitos de esta invención son el monooleato de sorbitan de polioxietileno, polisorbato 80, polisorbato 20 ó similares. Los agentes adicionales conocidos en el arte para la
5 formulación de una proteína tal como cuerpos miméticos, o porciones específicas o variantes, también pueden ser incluidos en la formulación.

Administración de composiciones de cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o porción especificada o variante mediante un Nebulizador

10

La composición de proteína de cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida, se puede administrar mediante un nebulizador, tal como un nebulizador a chorro o un nebulizador ultrasónico. Típicamente, en un nebulizador a chorro, se utiliza una fuente de aire comprimido para crear un chorro de aire de alta velocidad
15 a través de un orificio. Así, el gas se expande más allá de la boquilla, se crea una región de baja presión, que dirige una solución de la composición de proteína de cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o porción especificada o variante a través de un tubo capilar conectado a un depósito de líquido. La corriente de líquido, desde el tubo capilar, se corta en filamentos inestables y es
20 goteada al estar en el tubo, y se crea el aerosol. Se puede emplear, un intervalo de configuraciones, velocidades de flujo, tipos de barrera, para alcanzar las características de realización deseadas de un nebulizador a chorro dado. En un nebulizador ultrasónico, se utiliza una energía eléctrica de alta frecuencia para

crear la energía vibracional, mecánica, típicamente se emplea un transductor piezoeléctrico. Esta energía se transmite a la formulación de la composición de proteína de cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o porción especificada o variante directamente o a través de un fluido de acoplamiento, que
 5 crea un aerosol que incluye la composición de proteína de cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o porción especificada o variante. Ventajosamente, las partículas de la composición de proteína de cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o porción especificada o variante suministrada mediante un nebulizador, tiene un tamaño de partícula menor que cerca de 10 μm ,
 10 preferiblemente en el intervalo de cerca de 1 μm hasta 5 μm , y más de preferencia cerca de 2 μm hasta cerca de 3 μm .

Las formulaciones adecuadas de al menos un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o porción especificada o variante, para el uso con un
 15 nebulizador, de chorro o ultrasónico, típicamente incluyen composición de proteína de cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o porción especificada o variante en una solución acuosa en una concentración de cerca de 1 mg hasta cerca de 20 mg de al menos una proteína de cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o porción especificada o variante por ml de solución. La
 20 formulación puede incluir agentes como un excipiente, un amortiguador, un agente de isotonicidad, un preservante, un surfactante y preferiblemente zinc. La formulación también puede incluir un excipiente o agente para la estabilización de

al menos una composición de proteína de cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o porción especificada o variante, tal como una amortiguador, una agente reductor, una proteína de masa o un carbohidrato. Las proteínas de masa útiles en la formulación de al menos composición de proteínas de cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o porción especificada o variante, incluye albúmina, protamina, o similares. Típicamente los carbohidratos útiles en la formulación de al menos un cuerpo mimético suprimido de EPO mimética CH1 suprimida o porción especificada o variante incluye sucrosa, manitol, lactosa, trealosa, glucosa o similares. La formulación de al menos un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o porción especificada o variante, también incluye un surfactante, que puede reducir o prevenir la agregación inducida en la superficie de al menos un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o porción especificada o variante, causada por la atomización de la solución en la formación de un aerosol. Se pueden emplear varios surfactantes convencionales, tal como ésteres de ácido graso de polioxietileno y alcoholes, y ésteres de ácidos grasos de sorbitol de polioxietileno. Las cantidades oscilaran generalmente entre 0.001 y 4% en peso de la formulación. En especial, los surfactantes preferidos para los propósitos de esta invención son el mono-oleato de sorbitan de polioxietileno, polisorbato 80, polisorbato 20 ó similares. Los agentes adicionales conocidos en el arte para la formulación de una proteína tal como proteínas de cuerpos miméticos de EPO mimética CH1 suprimida o porciones específicas o variantes, también pueden ser incluidos en la formulación.

Administración de composiciones de cuerpos miméticos suprimidos de la CH1 mimético de EPO o porción especificada o variante, por un Inhalador de Dosis Medida

5 En un inhalador de dosis medida (MDI), se contienen un propelante, al menos un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o porción especificada o variante, y cualquiera de los excipientes u otros aditivos, en un cartucho como una mezcla que incluye un gas licuado comprimido. El accionamiento de la válvula medidora libera la mezcla como un aerosol,

10 preferiblemente que contiene partículas en el intervalo de tamaño de menos de cerca de 10 μm , de preferencia cerca de 1 μm hasta cerca de 5 μm , y más de preferencia cerca de 2 μm hasta cerca de 3 μm . El tamaño de partícula preferido de aerosol, se puede obtener mediante el empleo de una formulación de composición de proteína de cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o

15 porción especificada o variante, producida por varios métodos conocidos para aquellos versados en la materia, que incluye molienda de chorro, atomizador seco, punto de condensación crítico o similares. Los inhaladores de dosis medida preferidos incluyen aquellos fabricados por 3M o Glaxo y que emplean un propelante de hidrofluorocarbono.

20

Las formulaciones de al menos un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o porción especificada o variante para el uso con un dispositivo de dosis

medida, incluirán generalmente un polvo finamente dividido de al menos un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o porción especificada o variante como una suspensión en un medio no acuoso, por ejemplo, suspendido en un propelante con la ayuda de un surfactante. El propelante puede ser cualquier material convencional empleado para este propósito, tal como clorofluorocarbono, un hidroc fluorocarbono, un hidrofluorocarbono, ó un hidrocarbono, que incluye triclorofluorometano, diclorodifluorometano, diclorotetrafluoroetanol y 1,1,1,2-tetrafluoroetano, HFA-134a (hidrofluoroalcano -134a), HFA-227 (hidrofluoroalcano-227) ó similares. Preferiblemente, el propelante es un hidrofluorocarbono. El surfactante puede ser escogido para estabilizar al menos un cuerpo mimético suprimido de la CH1 de EPO o porción especificada o variante como una suspensión en el propelante, para proteger el agente activo contra la degradación química y similares. Los surfactantes adecuados incluyen sorbitan triolato, lecitina de soya, ácido oléico o similares. En algunos casos los aerosoles de solución son preferidos mediante el uso de solventes tal como el etanol. Agentes adicionales conocidos en el arte para la formulación de una proteína tal como proteína, pueden ser incluidos en la formulación.

Una persona comúnmente versada en la materia reconocerá que los métodos de la presente invención, se pueden alcanzar por la administración pulmonar de al menos una de las composiciones de cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o porción especificada o variante por medio de dispositivos no descritos en la presente.

Administración y Formulaciones de Mucosa

A fin de la absorción a través de superficies de mucosa, las composiciones
5 y métodos de administración de al menos un cuerpo mimético de EPO mimética
CH1 suprimida o porción especificada o variante, incluye una emulsión que
comprende una pluralidad de partículas submicrón, una macromolécula
mucoadhesiva, un péptido bioactivo, y una fase acuosa continua, que promueve la
absorción a través de las superficies mucosas para alcanzar la mucoadhesión de
10 las partículas de emulsión (Pat. U.S. Nos. 5,514,670). Las superficies mucosas
adecuada para la aplicación de las emulsiones de la presente invención pueden
incluir rutas de administración: corneal, conjuntival, bucal, sublingual, nasal,
vaginal, pulmonar, estomacal, intestinal y rectal. Las formulaciones para
administración vaginal o rectal, e.g., supositorios, pueden contener como
15 excipientes, por ejemplo, polialquilenglicoles, vaselina, manteca de cacao, y
similares. Las formulaciones para la administración intranasal pueden ser sólidas y
contener como excipientes, por ejemplo, lactosa o pueden ser soluciones de gotas
nadales acuosas u oleosas. Para la administración bucal, los excipientes pueden
incluir azúcares, estearato de calcio, estearato de magnesio, almidón
20 pregelatinizado, y similares (Pat. U.S. Nos. 5,849,695).

Administración y formulaciones Orales

Las formulaciones orales dependen de la co-administración de adyuvantes (e.g., resorcinoles y surfactantes no iónicos tal como éter oleílico de polioxietileno y n-hexadecilpolietilen éter) para incrementar de manera artificial la permeabilidad de las paredes intestinales, así como también la co-administración de inhibidores enzimáticos (e.g., inhibidores de tripsina pancreática, diisopropilfluorofosfato (DFF) y trasilol) para inhibir la degradación enzimática. El compuesto constituyente activo de la forma de dosis del tipo sólido para la administración oral, se puede mezclar con al menos un aditivo, que incluye sucrosa, lactosa, celulosa, manitol, trealosa, rafinosa, maltitol, dextran, almidones, agar, arginatos, quitinas, quitosanos, pectinas, goma tragacanto, goma arábiga, gelatina, colágeno, caseína, albúmina, polímero sintético o semisintético, y glicérido. Estas formas de dosis también pueden contener otro(s) tipo(s) de aditivos, e.g., agente de dilución inactivo, lubricante tal como estearato de magnesio, parabeno, agente preservante, tal como ácido sórbico, ácido ascórbico, alfa-tocoferol, antioxidante como cisteína, desintegrador, aglomerante, espesador, agente amortiguador, agente edulcorante, agente saborizante, agente aromatizante, etc.

Las tabletas y píldoras, además pueden ser procesadas en preparaciones recubiertas entéricas. Las preparaciones líquidas para la administración oral incluyen emulsión, jarabe, elixir, suspensión y preparaciones de solución permitidas para el uso médico. Estas preparaciones pueden contener agentes diluyentes inactivos comúnmente utilizados en dicho campo, e.g., agua. Los

liposomas, también se han descrito como sistemas de suministro de medicamento para la insulina y heparina (Pat. U.S. No. 4,239, 754). Más recientemente, se han utilizado las microesferas de polímero artificial de mezcla de aminoácidos (protenoides), para suministrar fármacos (Pat. U.S. No. 4,925,673). Además,
 5 Se conocen en el arte, los compuestos portadores descritos en la Pat. U.S. No. 5,879,681 y la Pat. U.S. No. 5,871,753, que se utilizan para suministrar de manera oral, agentes biológicamente activos.

Administración y Formulaciones Transdérmicas

10

A fin de la administración transdérmica de al menos un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o porción especificada o variante, se encapsula en un dispositivo de suministro tal como un liposoma o nanopartículas poliméricas, micropartícula, microcápsula, o microesferas (referidas de manera correcta como
 15 micropartículas a menos que se señale de otra manera). Se conocen un número de dispositivos adecuados, que incluyen micropartículas hechas de polímeros sintéticos tal como ácidos polihidroxilo, tal como ácido poliáctico, ácido poliglicólico y copolímeros de los mismos, polirtoésteres, polianhídridos y polifosfazenos, y polímeros naturales tal como colágeno, ácidos poliamino, albúmina y otras
 20 proteínas, alginato y otros polisacáridos, y combinaciones de los mismos (Pat. U.S. Nos. 5,814,599).

Formulaciones y Administración Prolongada

Algunas veces puede ser deseable el suministro de los compuestos de la presente invención al sujeto durante periodos prolongados de tiempo, por ejemplo, por periodos de una semana hasta un año de una administración sencilla. Se pueden utilizar varias formas de dosis de liberación lenta, depósito o implante. Por ejemplo, una forma de dosis puede contener una sal no tóxica farmacéuticamente aceptable de los compuestos que tienen un grado bajo de solubilidad en fluidos corporales, por ejemplo, (a) un sal de adición ácida con un ácido polibásico tal como ácido fosfórico, ácidos sulfúrico, ácido cítrico, ácido tartárico, ácido tánico, ácido pamoico, ácido alginico, ácido poliglutámico, ácidos de naftaleno mono- ó di-sulfónico, ácido poligalacturónico, y similares; (b) una sal con un catión metálico polivalente tal como zinc, calcio, bismuto, bario, magnesio, aluminio, cobre, cobalto, níquel, cadmio y similares, o con un catión orgánico formado de e.g., N,N'-dibencil-etilendiamina ó etilendiamina; o (c) combinaciones de (a) y (b), e.g., sal de tanato de zinc. Adicionalmente, los compuestos de la presente invención o, preferiblemente, una sal relativamente insoluble tal como aquellas ya descritas, se pueden formular en un gel, por ejemplo, un gel de monoestearato de aluminio con e.g., aceite de ajonjolí, adecuado para inyección. Las sales particularmente preferidas son las sales de zinc, sales de tanato de zinc, sales de pamoato, y similares. Otro tipo de formulación de depósito de liberación lenta para inyección, contendría el compuesto o sal dispersada para encapsulación en un polímero de degradación lenta, no tóxico, no antigénico, tal como un polímero de ácido

poliláctico/ ácido poliglicólico, por ejemplo como se describe en la Pat. U.S. No. 3,773, 919. Los compuestos o, preferiblemente, sales relativamente insolubles tal como aquellas descritas anteriormente, también se pueden formular en gránulo silástico de matriz de colesterol, particularmente para el uso en animales. Las formulaciones adicionales de liberación lenta, depósito o implante, e.g., liposomas de gas o líquido, se conocen en la literatura (Pat. U.S. Nos. 5,770,222 y en "Sustained and Controlled Release Drug Delivery systems", J. R. Robinson ed., Marcel Dekker, Inc., N.Y. 1978).

Al haber descrito de manera general la invención, la misma será fácilmente entendida como referencia a los siguientes ejemplos, que se proporcionan a manera de ilustración y no son pretendidos como limitaciones.

Ejemplo 1: Clonación y Expresión de un cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida en Células de Mamífero

Un vector típico de expresión de mamífero contiene al menos un elemento promotor, el cual media la iniciación de la transcripción del mRNA, el cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o porción especificada o variante que codifica la secuencia, y señales requeridas para la terminación de la transcripción y poliadenilación de la transcripción. Los elementos adicionales incluyen mejoradores, secuencias de Kozak y secuencias intercaladas por los sitios donante y receptor para la degradación de RNA. Se puede alcanzar la

transcripción altamente eficiente con un promotores de comienzo y final de SV40, las repeticiones largas terminales (LTRS) de Retrovirus, e.g., RSV, HTLVI, HIVI y el promotor de comienzo del citomagalovirus (CMV). No obstante, se pueden utilizar elementos celulares (e.g., el promotor de actina humano). Los vectores de expresión adecuados para el uso en la práctica de la presente invención incluyen, por ejemplo, vectores tales como pIRES1neo, pRetro-Off, pRetro-On, PLXSN ó pLNCX (Clontech Labs, Palo Alto, CA), pcDNA3.1 (+/-) , pcDNA/Zeo (+/-) ó pcDNA3.1/hygro (+/-) (invitrogen), PSVL y PMSG (Pharmacia, Uppsala, Suecia), pRSV cat (ATCC 37152), pSV2dhfr (ATCC37146) y pBC12MI (ATCC 67109). Las células huésped de mamífero que se podrían utilizar incluyen células humanas Hela 293, H9 y células Jurkat, células NIH3T3 y C127, Cos 1, Cos 7 y CV 1, células quail QC1-3, células L de ratón y células de ovario de hámster de la China (CHO).

Alternativamente, el gen puede ser expresado en líneas celulares estables que contienen el gen integrado dentro de un cromosoma. La co-transfección con un marcador seleccionador tal como dhfr, gpt, neomicina, o higromicina, permite la identificación y separación de las células transfectadas.

El gen transfectado también puede ser amplificado para expresar grandes cantidades de cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimido o porción especificada o variante codificada. El marcador DHFR (dihidrofolato reductuasa) es útil para desarrollar líneas celulares que portan varios cientos o incluso varios

miles de copias del gen de interés. Otro marcador de selección útil es la enzima glutamina sintasa (GS) (Murphy, et al., Biochem. J. 227: 277-279 (1991); Bebbigton, et al., Bio/Technology 10: 169-175 (1992)). Mediante el uso de estos marcadores, las células mamíferas crecen en un medio selectivo y se seleccionan las células con la mayor resistencia. Estas líneas celulares contienen el(los) gen(es) amplificado(s) integrados dentro de un cromosoma. Las células de ovario de hámster de la China (CHO) y NSO se utilizan a menudo para la producción de cuerpo mimético de la EPO mimética CH1 suprimido o porción especificada o variantes.

10

La expresión de vectores pC1 y pC4 contiene el promotor fuerte (LTR) del Virus Sarcoma Rous (Cullen, et al., Molec. Cell. Biol. 5:438-447 (1985)) más un fragmento del mejorador de CMV (Boshart, y otros., Cell 41: 521-530 (1985)). Los sitios de clonación Múltiple, e. g., con los sitios de degradación de la enzima de restricción BAmHI, XbaI y Asp718, facilitan la clonación del gen de interés. Los vectores contienen además el intrón 3', la poliadenilación y señal terminal del gen de preproinsulina de rata.

15

Clonación y Expresión en Células CHO

20

Se utiliza en vector pC4 para la expresión de cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o porción especificada o variante. El plásmido pC4 es un derivado del plásmido pSV⁻-dhfr (ATCC Acceso No. 37146). El plásmido contiene

el gen DHFR de ratón bajo control del promotor de comienzo de SV40. Las células de ovario de hámster de la China u otras células que carecen de actividad de dihidrofolato que son transfectadas con estos plásmidos, pueden ser seleccionadas mediante el crecimiento de células en un medio selectivo (e.g. alfa minus MEM, Life Technologies, Gaithersburg, MD) complementado con el agente quimioterapéutico metotrexato. La amplificación de los genes de DHFR en células resistentes a metotrexato (MTX) ha sido bien documentada (Veáse e.g., F. W. Alt, et al., J. Biol. Chem. 253: 1357-1370 (1978); J. L. Hamlin y C. Ma. Biochem et Biophys. Acta 1097:107-143 (1990); y M. J. Page y M. A. Sydenham, Biotechnology 9:64-68 (1991)). El crecimiento celular en concentraciones incrementadas de MTX, desarrollan resistencia al medicamento mediante la sobreproducción de la enzima objetivo, DHFR, como un resultado de la amplificación del gen de DHFR. Si un segundo gen se enlaza al gen de DHFR, normalmente se co-amplifica y sobre-expresa. Se conoce en el arte que esta aproximación se puede utilizar para desarrollar líneas celulares que llevan más de 1,000 copias de(los) gen(es) amplificado(s). Subsiguientemente, cuando el metotrexato se retira, se obtienen las líneas celulares que contienen el gen amplificado integrado dentro de uno o más cromosomas de la célula huésped.

El plásmido pC4 contiene para expresar el gen de interés, el promotor fuerte de la repetición larga terminal (LTR) del virus del Sarcoma Rous (Cullen, et al., Molec. Cell. Biol. 5: 438-447 (1985)) más un fragmento aislado del mejorador del gen de comienzo inmediato del citomegalovirus humano (CMV) (Boshart, et al.,

Cell 41: 521-530 (1985)). Corriente abajo del promotor, están los sitios de degradación de enzima de restricción BamHI, XbaI y Asp718, que permiten la integración de los genes. Detrás de estos sitios de clonación, el plásmido contiene el intrón 3' y el sitio de poliadenilación del gen de preproinsulina de rata. Otros
5 promotores de alta eficiencia, se pueden utilizar para la expresión, e. g., el promotor b-actina humano, los promotores de comienzo y final de SV40 o repeticiones largas terminales a partir de retrovirus, e. g. HIV y HTLV. Se pueden utilizar sistemas de expresión de gen de Clontech Tet-off y tet-on y sistemas similares para expresar la EPO de forma regulada en células de mamífero (M.
10 Gossen y H. Bujard, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89: 5547-5551 (1992)). Para la poliadenilación del mRNA, se pueden utilizar también otras señales, e.g., a partir de la hormona de crecimiento humana o genes de globina. Las líneas celulares estables que llevan un gen de interés integrado dentro de los cromosomas, también se pueden seleccionar sobre la co-transfección con un marcador
15 seleccionador tal como gpt, G418 o higromicina. Es ventajoso el uso de más de un marcador seleccionador en el comienzo, e. g. G418 más metotrexato.

El plásmido pC4 es digerido con enzimas de restricción y luego desfosfolilado mediante el uso de fosfatasa intestinal de ternero mediante
20 procedimiento conocidos en el arte. El vector, luego se aísla de un gel de agarosa al 1%.

Se utiliza la secuencia de DNA que codifica total del cuerpo mimético de la EPO mimética CH1 suprimido o porción especificada o variante, e. g. como se presenta en la SEQ ID NOS: 13, 14, 15, 16, 17, 18, que corresponden a las regiones variables de HC y LC de un cuerpo mimético de la EPO mimética CH1 suprimido de la presente invención, de acuerdo con etapas del método conocido. El ácido nucleico aislado que codifica una región constante humana adecuada (i.e., regiones HC y LC) también se utiliza en esta construcción (e. g. como se proporciona en el vector p1351.

10 La región variable y constante aislada que codifica el DNA y el vector desfosforilado, luego se ligan con una T4 DNA ligasa. Luego las células azules de E. coli HB101 ó XL-1, se transforman y se identifican las bacterias que contienen el fragmento insertado dentro del plásmido pC4, mediante el uso, por ejemplo de análisis de enzima de restricción.

15

Las células de ovario de hámster de la China (CHO) que carecen de un gen de DHFR activo, se utilizan para la transfección. Se co-transfecta 5µg del plásmido de expresión pC4 con 0.5 µg del plásmido pSV2- neo mediante el uso de lipofectina. El plásmido pSV2 neo contiene un marcador seleccionador dominante, el neo gen del Tn5 que codifica una enzima que le confiere resistencia a un grupo de antibióticos que incluye G418. Se siembran las células en alfa minus MEM complementado con 1 µg/ml de G418. Después de 2 días, las células son

tripzinizadas y sembradas en placas de clonación de hibridoma (Greiner, Alemania) en alfa minus MEM complementado con 10, 25 ó 50 ng/ ml de metotrexato más 1 µg/ml de G418. Luego de cerca de 10 a 14 días, los clones sencillos se tripsinizan y entonces se siembran en discos de petri de 6 pozos o
5 recipientes de 10 ml, que usan diferentes concentraciones de metotrexato (50 nM, 100 nM, 200 nM, 400 nM, 800 nM). Los clones que crecen en las concentraciones más altas de metotrexato, luego se transfectan en las placas de 6 pozos que contienen incluso concentraciones más altas de metotrexato (1 mM, 2 mM, 5 mM, 10 mM, 20 mM). Se repite el mismo procedimiento hasta que se obtienen los
10 clones que crezcan a una concentración de 100 a 200 mM. La expresión del producto del gen deseado, se analiza, por ejemplo mediante SDS-PAGE y manchado de Western o por análisis de HPLC de fase reversa.

15 **Ejemplo 2: Ejemplo no limitante de un Cuerpo Mimético CH1 suprimido de la Invención**

Antecedentes: El EMP-1 (péptido -1 de la EPO mimética) es un péptido de 20 aminoácidos sin ninguna secuencia homóloga a eritropoyetina humana (HuEPO), pero con la capacidad (como un dímero) de activar el receptor de la
20 EPO (Wrigton et al, 1996, Science, vol 273, 458-463). Sin embargo, su actividad relativamente baja (10,000 a 10,000 veces menos que la HuEPO) y su tiempo corto de vida media (vida media *ex vivo* de 8 horas en suero al 50%, vida media *in*

vivo desconocida), compromete su utilidad como un terapéutico. En consecuencia, se requirió una forma de conferirle al péptido una vida media más larga, sin la alteración y que mejore posiblemente su potencia. Para este fin, se realizaron varios intentos para incrementar la actividad de la EMP-1 mediante la

5 estabilización de la dimerización del péptido o por la incorporación del péptido en estructuras más grandes para incrementar su vida media. WRIGHTEN et al., (1997, Nature Biotechnology, vol 15, 1261-65), combinó EPM-1 marcada con biotina con estreptavidina para estabilizar la dimerización. Ellos observaron un incremento de 100 veces en la actividad en un ensayo de proliferación celular *in vitro*. También

10 utilizaron anticuerpos anti-biotina para estabilizar el dímero del péptido, no obstante únicamente se observó un incremento de 10 veces en la actividad. Los mismos autores prepararon una forma dimérica definida químicamente de la EMP-1. En este caso se observó el incremento de 100 veces en la actividad *in vivo*. Otro grupo buscó mejorar la actividad de la EMP-1 a través del enlazamiento

15 covalente a polietilenglicol (PEG) (Jonson et al., 1997, Chem & Bio., vol 4 (12), 939-50). Reportaron un incremento en la potencia de hasta 1000 veces, sin embargo, la construcción se encontró inmunogénica en ratones (los anticuerpos se dirigieron al péptido) (Dana Jonson, Comunicación Personal). Kuai et al., (2000, J. Peptide Res. vol. 56 59-62), insertó el péptido de la EMP-1 dentro de la

20 secuencia del inhibidor-1 activador de plasminógeno (PAI-1) y fue a través de la inserción de la EMP-1 dentro de este andamiaje que se estabilizaría la dimerización y se incrementaría la vida media. En un ensayo *in vivo* se observó la potencia de esta construcción que es de 2500 veces más alto que la EMP-1 sola.

Se debe notar que diferentes modelos de ensayos *in vitro* e *in vivo* se utilizaron en estos estudios y las potencias reportadas no pueden ser comparables a las otras o a los resultados presentados aquí.

5 Cuerpo Mimético de EMP-1 CH1 suprimido de la Presente Invención

Un ejemplo específico no limitante de esta invención es la construcción de EMP-NfusCG1 donde V son los primeros tres aminoácidos de un anticuerpo de ocurrencia natural, Pep es una copia sencilla del péptido de EMP-1 bioactivo y
10 Flex es un repetición en tándem del enlazante flexible Gly-Gly-Gly-Ser. V2 es la región J de una IgG de ocurrencia natural, pGiro es la región de giro de la IgG1 completa y CH2 & CH3 son las subclases de isotipos de IgG1. Se piensa que esta estructura constriñe el péptido de EMP-1, pero permite la flexibilidad suficiente de tal manera que la dimerización de los péptidos como parte del homodímero
15 ensamblado se estabilice. En apoyo a esto, la actividad de la EMP-NfusCG1 en un ensayo de proliferación celular *in vitro* es cerca de 550 veces más que el péptido de EMP-1 y únicamente de 4 a 6 veces menor que la HuEPO recombinante (rHuEPO). Adicionalmente, se espera que la vida media de esta construcción sea muchas veces más de la rHuEPO ó del péptido de EMP-1 solo y similar a aquella
20 de una IgG. De manera consistente, los ratones normales tratados con EMP-NfusCG1 alcanzan hematocrito máximo más alto comparado con los ratones tratados con rHuEPO, cuando se proporcionan unidades de actividad igual, se mantienen niveles elevados por periodos más largos. Esta construcción es

eficientemente secretada a partir de células y parece ser correctamente plegada; superando los problemas asociados con la 1ª generación de cuerpos miméticos.

En adición a la estructura básica descrita anteriormente, se describen variantes con características biológicas potencialmente favorables. Estas, incluyen construcciones que pueden tener una tendencia disminuida a auto-asociarse, reducir funciones efectoras inmunológicas o disminuir la inmunogenicidad. Se prevén otras modificaciones que confieren características deseadas tal como la conformación mejorada del péptido biológicamente activo, y la transferencia cruzada de la barrera sangre-cerebro. Las variantes y modificaciones propuestas pueden ser combinaciones en cualquier modo para producir construcciones con actividades deseadas.

Mediante el uso de métodos de DNA recombinante, se insertó el péptido de EMP-1 dentro de un vector intermediario entre un péptido señal de inmunoglobulina y una secuencia J humana. Esto se realizó mediante el uso de oligonucleótidos sintéticos complementarios con terminales compatibles con los sitios de restricción Bst1107I y KpnI presentes en el vector

(5'TACAGGCCAGATCCAGGGCGGTACCTACAGCTGCCACTTCGGGCC
CCTCACGTGGGTGTGCAAGCCCCAGGGCGGCGGAAGCGGGGGAGGCTCCG
GTAC3' (SEQ ID NO: 43) y
3'CGGAGCCTCCCCGCTTCCGCCGCCCTGGGGCTTGCACACCCACGTGAGG
GGCCCAAGTGGCAGCTGTAGGTACCGCCCTGAATCTGGGCCTGTA5' (SEQ ID
NO:44).

Estos oligonucleótidos contienen secuencias que codifican para el sitio de consenso de señal de peptidasa, el péptido de EMP-1 y un enlazante flexible compuesto de dos repeticiones Gly-Gly-Gly-Ser. Un fragmento de restricción XbaI que contienen los elementos funcionales anteriormente mencionados, luego se
5 transfectan dentro de un vector de expresión. Este vector y mejorador contiene el promotor de inmunoglobulina anti-CD4 y la secuencia que codifica para el giro de IgG1 humana, la región 2 (CH2) constante HC y la región 3 (CH3) constante, así como también los elementos necesarios para la replicación y selección del plásmido en bacterias y la selección de los expresadores estables en células de
10 mamífero.

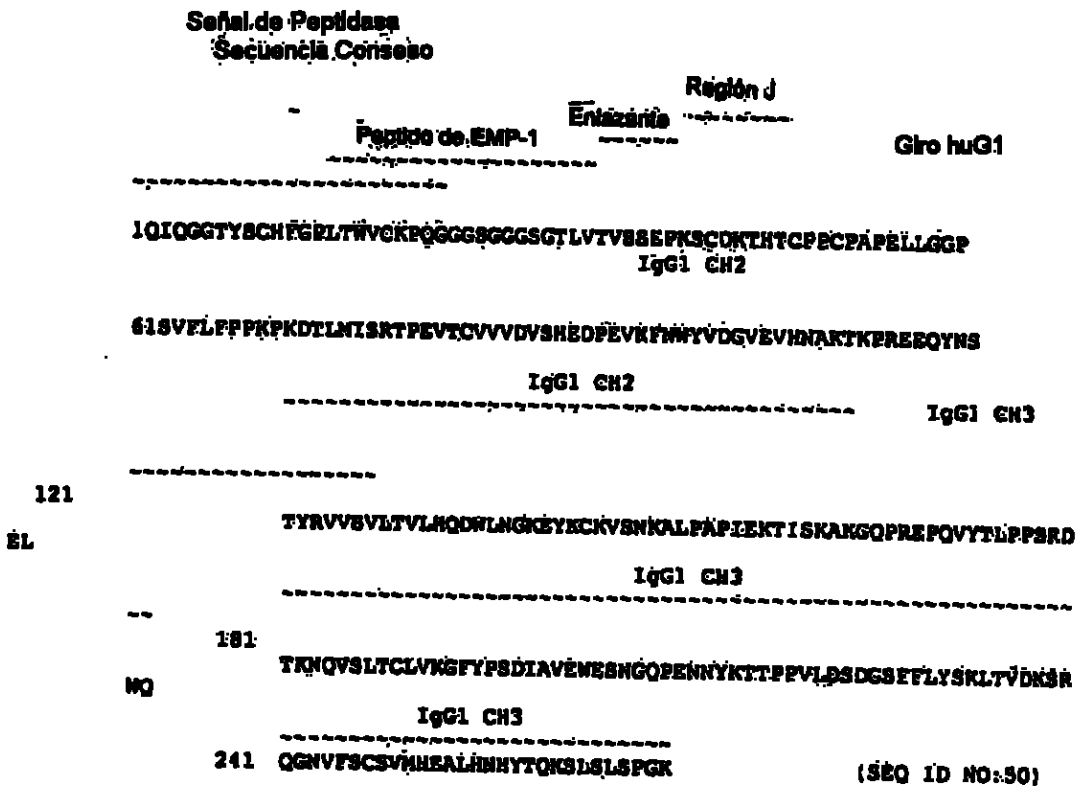
Este plásmido se linealiza e introduce dentro de la línea celular NSO de mieloma de ratón por medio de electroporación. Se seleccionaron las células resistentes y se identificaron los expresadores de EMP-NfusCG1 mediante el
15 ensayo de ELISA de sobrenadantes de cultivo. Se realizó la purificación de la construcción a partir de los sobrenadantes, mediante cromatografía de afinidad de proteína A estándar. El paso del producto purificado a través de geles de poliacrilamina que contenían SDS bajo condiciones de desnaturalización y de reducción, confirmaron el tamaño esperado del producto purificado. Además se
20 confirmó la identidad de la proteína purificada, mediante espectrometría de masas y secuenciación N-terminal.

Se muestra más abajo la secuencia de aminoácidos de la EMP-NfusCG1.

Se anotaron los dominios funcionales encima de la secuencia que codifica el péptido. La secuencia consenso del péptido señal de tres aminoácidos, corresponde a los primeros tres aminoácidos de una inmunoglobulina de
5 ocurrencia natural. Se piensa que estos aminoácidos contribuyen a la remoción eficiente del péptido señal mediante señal de peptidasa en el retículo endoplásmico. Esta secuencia se continúa inmediatamente por la secuencia que codifica la EMP-1. Los dos aminoácidos C-terminal de la secuencia de EMP-1 combinados con los seis aminoácidos contiguos forman un enlazante flexible
10 caracterizado por la repetición Gly-Gly-Gly-Ser. Una región de unión (J) continúa la secuencia. Se cree que la secuencia J proporcionará incluso más flexibilidad para permitir que el dímero de EMP-1 asuma la conformación característica y le permita al dímero empujar hacia fuera desde la estructura globular de la inmunoglobulina, y penetre dentro de la hendidura entre los dos receptores de
15 EPO. La región de giro HC también está incluida en la construcción inmediatamente a continuación de la región J. Hay tres cisteínas en la región de giro de IgG1 (resaltadas). La primera usualmente se empareja a la cadena ligera de inmunoglobulina (LC) y las dos segundas participan en los enlaces inter-cadena entre los dos HCs. El resto de la secuencia se compone de las regiones
20 CH2 & CH3, las cuales constituyen la masa de la proteína. Se cree que una de las razones para que esa inmunoglobulina tenga una vida media prolongada en suero, es debido a su capacidad de enlazarse a la FcRn que extiende la vida media en suero mediante el retorno de la inmunoglobulina pinocitada de regreso al espacio

extracelular. El sitio de unión de la FcRn se superpone a la unión de las regiones CH2 y CH3 (Sheilds et al., 2001, J. Biol. Chem. vol 276 (9), 6591-6604).

La secuencia del péptido de EMP-NfusCG1 muestra los dominios
5 funcionales importantes.



Es bien sabido que las dos cadenas pesadas de la IgG, se ensamblan durante el proceso celular por medio de enlaces disulfuro entre las cisteínas localizadas en la región de giro a fin de formar un homodímero. Se espera que
10 esto también suceda entre los péptidos modificados para formar la construcción de EMP-NfusCG1 ensamblada. Adicionalmente, se espera que también se forme el

enlace disulfuro intracadena entre las dos cisteínas del péptido de EMP-1. La estructura esperada a lo largo del N-terminal con la flexibilidad de secuencias unidas debe permitir a los péptidos formar el dímero bioactivo.

Primero se probó la actividad de EMP-NfusCG1, en un ensayo de bioactividad *in vitro*. Para este ensayo, se utilizó la línea celular UT-7/EPO dependiente de EPO, derivada de un paciente con leucemia megacarioblástica aguda (Komatsu et al., 1993, Blood, vol. 82 (2), 456-464). Estas células experimentan muerte celular programada de 48 a 72 horas luego de sacarlas del medio complementado con rHuEPO. Las células que se encubaron en ausencia de rHuEPO por 24 horas, se pueden salvar si se tratan con rHuEPO o un agonista de EPO. Se adicionó EMP-NfusCG1 a las células expuestas sin rHuEPO y se determinó la viabilidad celular 48 horas luego del tratamiento mediante el uso del compuesto de tetrazolio MTS (CellTiter 96 Aqueous One Solution, Promega), que se metaboliza por las células vivientes para proporcionar un producto con una absorbancia que se puede medir. Los resultados de un ensayo típico, mostraron que la potencia de EMP-NfusCG1 sobre una base molar es de 500 veces mayor que la del péptido de EMP-1 y 5 veces menor que la de rHuEPO. Adicionalmente, estas mismas células se estimularon con EMP-NfusCG1 y se visualizó los patrones de fosforilación de tirosina mediante el corrimiento de las células lisadas a través de gel de poliacrilamida. El patrón mostrado por la EMP-NfusCG1 fue similar al de la rHuEPO, que indica que el mecanismo por el cual la EMP-NfusCG1 actúa sobre aquellas células, es similar al de la rHuEPO.

Los estudios *in vivo* se terminaron en ratones normales a fin de comparar la vida media de EMP-NfusCG1 con aquella de rHuEPO y comparar sus efectos sobre la eritropoyesis. Los estudios preliminares indicaron que la respuesta a rHuEPO fue más pronunciada cuando los ratones se dosificaron en dos días consecutivos, antes que una dosis sencilla. También se observó en los estudios preliminares, que el hematocrito de los ratones fue elevado de manera máxima en el día 4, cuando la rHuEPO fue dosificada a 2000 U/kg y cae de regreso cerca de los niveles de la línea base en el día 7. Al comparar el efecto de EMP-NfusCG1 con la rHuEPO, la dosis de EMP-NfusCG1, se normalizó basado en la actividad en el ensayo de bioactividad *in vitro*; aproximadamente se proporcionó cinco veces más la EMP-NfusCG1 puesto que fue 5x menos activo en el ensayo. La diferencia en los pesos moleculares también se tomaron en consideración (rHuEPO =30,400 daltons, EMP-NfusCG1 = 62,200 daltons). Cuando los ratones se dosificaron por igual, basado en estas consideraciones, la EMP-NfusCG1 proporcionó una respuesta máxima más alta y la respuesta fue prolongada al ser comparada con la del rHuEPO.

Se midieron mediante ELISA, las concentraciones en suero de ambas, rHuEPO y EMP-NfusCG1. En un ensayo sensible a concentraciones de rHuEPO tan bajas como 2.5 mU/ml, no se observaron señales positivas desde el día 4 en muestras de una dilución de 1:8. Esto es consistente con la vida media esperada de 2 a 8 horas de rHuEPO en roedores. (Reporte Experto, Parte IC2: Documentación Tóxico-Farmacológica). En contraste, los niveles de la EMP-

NfusCG1 tan altos como 1.5 ug/mL, se detectaron en el día 4 y permanecieron altos a lo hasta el final del estudio. La linealidad en el perfil de margen en la Figura 6 es inusual. Puede ser que, dado que el primer punto de tiempo fue 3 días después de la última inyección, la concentración máxima (C_{max}) se alcanzó antes de que se tomara la primera muestra y por lo tanto no se observó el pico de la curva exponencial. Otra explicación es que la absorción y los perfiles de eliminación de esta construcción novedosa son de tal manera que el perfil de margen parece lineal. Con base en estos datos, se puede calcular una vida media aproximada de 10.8 días, varias veces la de la rHuEPO.

10

En adición a la EMP-NfusCG1, se realizaron tres construcciones similares que difieren en el isotipo de las regiones de giro CH2 y CH3 o en el número de elementos incluidos para permitir la flexibilidad del péptido de EMP-1. Una de las construcciones, denominado EMP-NfusCG4, es idéntica a EMP-NfusCG1, excepto en que la regiones de giro y constante son del subtipo G4. Específicamente, el fragmento de restricción XbaI utilizado para construir el plásmido de expresión de EMP-NfusCG1, se transfirió dentro de un vector que proporcionó el promotor y mejorador de inmunoglobulina anti-CD4 y la secuencia que codifica para el giro de IgG4 humana, CH2 y CH3, así como también los elementos necesarios para la replicación del plásmido y la selección en bacterias y selección para expresadores estables en células de mamíferos. Este plásmido se expresó y purificó de una manera similar a la de EMP-NfusCG1. La secuencia que codifica EMP-NfusCG4, se muestra más abajo.

15

20

169
171

La siguiente muestra una comparación de un par de ejemplos de un cuerpo

5 mimético CH1 suprimida:

QIQGGGFTSCHFGPLTHVCKPQGGGSGGGSGTLVTVSSSEPKSCDKRTH-TCFPFCPAPELL
 MG1 ---.....
 CG4 S.YGFP---.S....F.
 MG4 ---.....S.YGFP---.S....F.
 muCG2a.....RGPTIKPCPFCK....N.

Una importante diferencia entre los subtipos IgG1 e IgG4 está en el número de cisteínas en la región de giro. Como en el subtipo G1, hay dos cisteínas en el giro de IgG4, que participan en el enlace de disulfuro entre las cadenas pesadas.

10 La cisteína que está usualmente involucrada en el enlace de disulfuro a la LC, está ausente a causa del giro de G4; se localiza en la región CH1 de G4 y puede incrustar conformaciones potenciales del dímero de EMP-NfusCG1 (Dangl et al., 1997; EMBO journal, vol. 7 (7), 1989-94). Adicionalmente, los dos isotipos difieren

en la capacidad de mediar la toxicidad dependiente del complemento (CDC) y citotoxicidad celular dependiente de anticuerpo (ADCC). El isotipo G1 es un inductor fuerte de la cascada del complemento, en tanto que el subtipo G4 posee una actividad pequeña (Dangl et al., 1997, EMBO Journal, vol 7 (7), 1989-94). En
5 adición, el subtipo G1 se enlaza con alta afinidad al receptor de FC y contribuye a la citotoxicidad mediada por células, en tanto que el subtipo G4, se enlaza débilmente (Allan & Seed, 1989, Science, vol. 423, 378-80). Es deseable la incapacidad relativa del subgrupo G4 para activar las funciones efectoras, dado que se desea la proliferación de las células objetivo. El sitio de unión para el
10 receptor secuestrante de FcRn, se presenta sobre la IgG4 y ya que no parece ser cualquiera subclase de IgG diferenciar el enlace, se espera que las farmacocinéticas sean similares a las del subtipo G1 (West et al., 2000, Biochem, vol. 39, 9698-9708).

15 Así, con G1 la construcción EMP-NfusCG4 se expresa para formar un homodímero por medio de las dos cisteínas localizadas en la región de giro. Como se mencionó anteriormente, la ausencia de una tercera cisteína en el giro de G4, niega la posibilidad de un tercer enlace de disulfuro entre las dos cadenas. La conformación del dímero de EMP-1 también puede ser diferente, debido a las
20 diferencias en tamaño y flexibilidad de las regiones de giro. Nada de estas diferencias, se esperarían de la estructura general de la EMP-NfusCG4 para ser similares a la EMP-NfusCG4.

La EMP-NfusCG4 se probó en un ensayo de bioactividad *in vitro* como se describió previamente. El ensayo se realizó dos veces con resultados similares. La potencia de la EMP-fusCG4 es 13 veces menor que la EMP-NfusCG1 en este ensayo, no obstante, en promedio, la diferencia es cerca de de 10 veces. Puesto que la EMP-NfusCG1 es 5 veces menos potente que la rHuEPO, se esperaría que la diferencia entre la EMP-NfusCG4 y la rHuEPO, sea de cerca de 50 veces. En este ensayo, la diferencia actual es de 60 veces. La diferencia entre la EMP-NfusCG4 y la EMP-1 en este ensayo es de 40 veces, sin embargo el valor de la EC₅₀ para EMP-1 es 2 veces más bajo que el promedio histórico, de lo cual, la diferencia entre la EMP-NfusCG4 y la EMP-1, puede ser mayor. La actividad más baja observada con la EMP-NfusCG4 se atribuye a las diferencias en el giro que no puede permitir al dímero de EMP-1 formar una conformación óptima. A la fecha, no se han probado *in vivo* la EMP-NfusCG4.

Se diseñaron dos construcciones adicionales a fin de investigar qué dominios funcionales son requeridos para la actividad. Por esto, la región J humana y una de las repeticiones de Gly-Gly-Gly-Ser se omitieron entre la secuencia de la EMP-1 y la región de giro. Las diferencias entre las versiones "completas" descritas anteriormente y aquellas versiones "mínimas", difieren en la subclase del isotipo (G1 vs G4) del giro, las regiones CH2 y CH3.

	Señal de Peptidasa Secuencia Consenso	Región J Enlazante
	Peptido de EMP-1	
Completa	QIQGGTYSCHFGPLTWVCKPQGGGSGGSGTLVTVSS..HInga	SEQ ID NO:52
Mínima	QIQGGTYSCHFGPLTWVCKPQGGGS. Gly e	SEQ ID NO:53

La construcción de plásmidos de expresión para las versiones mínimas, denominadas EMP-NfusMG1 y EMP-NfusMG4, se realizaron mediante la inserción de oligonucleótidos sintéticos dentro de un vector intermediario y se terminó la construcción de plásmidos de expresión para EMP-NfusCG1 y EMP-NfusCG4

(5'TACAGGCCCCAGGGCGGTACCTACAGCTGCCACTTCGGGCCCCTCACGTGG GTGTGCAAGCCCCAGGGCGGCGGATCAGGTAAGTT^{3'} (SEQ ID NO:45) Y ^{3'}CTAGAACTTACCTGATCCGCCGCCCTGGGGCTTGACACCCACGTGAGGGG CCCGAAGTGGCAGCTGTAGGTACCGCCCTGGGCCTGTA^{5'})(SEQ ID No: 46).

Estos oligonucleótidos sintéticos contienen la secuencia que codifica para el sitio consenso de la señal de peptidasa, el péptido de EMP-a y una repetición sencilla de Gly-Gly-Gly-Ser- En este caso, sin embargo, el extremo 3' de los oligonucleótidos fue compatible con el sitio de restricción distinto a los oligonucleótidos utilizados para construir las versiones completas. Mediante la clonación dentro del sitio XbaI, que está localizado corriente debajo de la región j en el vector intermediario, se omitió la secuencia que codifica para la región j. La construcción de los plásmidos de expresión finales, se realizó como se describió para la EMP-NfusCG1 y la EMP-NfusCG4. Debido a problemas técnicos, hasta

la fecha, únicamente se ha expresado y purificado la EMP-NfusMG4. La estructura esperada de la EMP-NfusMG4 tiene una protrusión del péptido de EMP-1 de la estructura globular de la proteína y se espera que sea menos pronunciada que con la EMP-N-fusCG4 y por esta razón el dímero del péptido de EMP-1 no puede ser capaz de penetrar dentro de la hendidura entre los receptores de EPO. Adicionalmente, se puede reducir la flexibilidad de los péptidos de EMP-1 para formar una configuración de dímero óptima. Esto es especialmente importante a la luz de las observaciones hechas por Liban et al. (1998, Nat. Struct. Biol., vol. 5, 993-1004), quienes hallaron un péptido (EMP-33) que podría dimerizar dos receptores de EPO, pero que no activa el receptor. Al comparar la estructura cristalina del complejo del EMP-33/receptor de EPO con el complejo de EMP-1/receptor EPO, ellos encontraron que una ligera discrepancia en la orientación de los receptores dimerizados, era la diferencia entre la capacidad de los péptidos para activar los receptores. En consecuencia, si el dímero de EMP-1 no puede formar la conformación óptima, debe ser incapaz de dimerizar el receptor de EPO, o no puede conducir a los receptores a una conformación de activación.

Se probó la construcción de la EMP-NfusMG4 para la actividad en un ensayo de bioactividad *in vivo* UT7. Los resultados de este ensayo se presentaron en la Figura 12. Puesto que este ensayo se realizó únicamente una vez, dado que la variabilidad del ensayo de bioactividad, estos resultados deben ser vistos como preliminares. La potencia de la EMP—NfusMG4 es 227 veces menor que la de la rHuEPO y 44 veces más que el péptido de EMP-1 en este ensayo. Sin embargo,

la EC₅₀ de la rHuEPO en este ensayo es tres veces más baja que el promedio histórico, así, la diferencia entre la EMP-NfusMG4 y la rHuEPO sería significativamente más baja. No se realizó una comparación directa entre la EMP-Nfus CG4 y la EMP-NfusMG4. Con base en una comparación del promedio de la

5 EC₅₀ de la EMP-NfusCG4, 3.5×10^{-10} , con la EC₅₀ de la EMP-NfusMG4, se observada en este ensayo, la diferencia es de dos veces. En tanto que estos resultados son preliminares, esto incide que la ausencia de la secuencia J humana y una repetición de Gly-Gly-Gly-Ser, no reduce de manera sustancial la potencia de la construcción de la EMP-NfusMG4. No se sabe si esta observación se

10 extendería a la construcción de la EMP-NfusMG1.

Construcciones adicionales se han expresado actualmente con cambios sencillos o múltiples de aminoácidos a fin de evitar las actividades no deseadas. Estos cambios se pueden expresar solos o cambios múltiples combinados en un

15 construcción sencilla. Usualmente, la cisteína involucrada en un puente de disulfuro entre el HC y el LC mutará hacia una alanina. En tanto que esta cisteína puede ser involucrada en la estabilización de la construcción mediante la formación de un tercer puente de disulfuro, es posible que pueda de manera anormal forme un enlace de disulfuro con otras cisteínas dentro de la

20 construcción, o podría formar un enlace de disulfuro entre dos construcciones. Mediante la remoción de la cisteína, doblamiento y ensamble adecuado, se podría mejorar y disminuir la posibilidad de auto asociación.

Se ha mostrado que la mutación de dos residuos de lisina (L), L234 & L235, en la región de giro inferior de la IgG1 hacia alanina (A) anulará la capacidad de la inmunoglobulina para mediar la citotoxicidad dependiente del complemento (CDC) y la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpo (ADCC) (Hezereh et al., j. Virol., vol. 75 (24), 12161-68). Estudios preliminares han demostrado que la EMP-NfusCG1 no media la lisis del complemento de células que expresan el receptor de EPO. Esto puede ser debido al bajo número de receptores que se encuentran en las células progenitoras eritroideas. Adicionalmente, la expansión *in vivo* de progenitoras eritroideas como se evidencia por los incrementos significantes en el hematocrito, apoya la posibilidad de inconexión funcional de las funciones efectoras inmunológicas. Sin embargo, en tanto no se ha observado ninguna función efectora asociada afecta, permanece un interés en introducir estas mutaciones como una etapa preventiva.

Otra modificación que resultaría en una disminución en la mediación de las funciones efectoras inmunológicas es la remoción de los sitios de unión de glicosilación. Esto se puede realizar mediante la mutación de una asparagina en la posición 297 (N297) hacia glutamina (Q). Opcionalmente, los cambios adicionales pueden incluir el reemplazo de la treonina (T) con un aminoácido alternativo para reducir o modificar la O-glicosilación, e. g., T34 ó T47 con versiones Aglicosiladas de la subclase de IgG1, conocidas por ser mediadores pobres de la función efectora inmunológica (Jefferis et al., Immol. Rev., vol. 163, 50-76).

776
178'

Mutaciones propuestas en el giro de EMP-NfusCG1 y secuencias que codifican CH2. (SEQ ID: 47)

Una modificación adicional que se persigue es el reemplazo de las regiones CH2 y CH3 de la IgG1 de la EMP-fusCG1 con las mismas regiones de la subclase de IgG4, mientras que se retiene la región de giro de G1. Como se discutió previamente, la capacidad de la subclase de IgG4 es mediar las funciones efectoras inmunológicas y es mucho más baja que la de la subclase G1. También como se discutió de manera previa, se especula que las diferencias entre la flexibilidad de la región de giro en las dos subclases de IgG pueden ser responsables por las diferencias en la actividad entre la EMP-NfusCG1y la EMP-NfusCG4. así esta construcción podría retener la actividad de la EMP-NfusCG1 sin la importancia de funciones efectoras potenciales inmunológicas.

15

Otras modificaciones previstas son aquellas que disminuirían la inmunogenicidad potencial de las construcciones. Una determinación importante de la inmunogenicidad es la capacidad de los péptidos derivados de una proteína que es enlazada eficientemente y presentada por las moléculas del MHC a las

células T y sacar una célula basada en la respuesta inmunológica o célula T ayudada por una respuesta de anticuerpo. Mediante el uso de sitios web públicamente disponibles basados en algoritmos para la unión de MHC (SYFPETHI, Ramensee et al., 1999, Immunogenetics, vol. 50, 213-19 y BIMAS) se analizaron los epítpos de enlace de HMC potenciales dentro de la EMP-1 que contienen la región N-terminal de la EMP-NfusCG1. Se pueden evaluar las mutaciones que disminuirían la inmunogenicidad predictiva de uno o más péptidos para efecto *in vivo* sobre la inmunogenicidad.

10 (SEQ ID NO: 48): Péptidos que son predictivos para enlazar moléculas MHC clase I.

QIQGGTYSCHFGPLTWVCKPQGGGSGGGSGTLVTVSSEPKSCDKTHTC
PPC

IQGGTYSCHF
GTYSCHFGPL
TYSCHFGPL
YSCHFGPLTW
CHFGPLTWV

GSGGGSGTL
SGGGSGTLV
GGGSGTLVTV
GGSGTLVTV
TLVTVSSEPK
LVTVSSEPK
SSEPKSCDKT
SSEPKSCDK

Péptidos que son predictivos para enlazar moléculas HMC clase II.

15 (SEQ ID NO: 49)

Ejemplos no limitantes de secuencias adicionales incluyen las siguientes:

-
Sin Q1Q
(SEQ ID NO:62)
GGTYSCHEGPLTWVCKPQGGGSGGGSGTLVTVSSEPKSCDKTHTCPPCPAPELL

Mutación de dos Cys en EMP-1:
(SEQ ID NO:63)
(QVQ)GGTYSSHFGLTWVSKPQGGGSGGGSGTLVTVSSEPKSADKTHTCPPCPAPEAA

Mutación de Leu56 y Leu57:
(SEQ ID NO:64)
(QIQ)GGTYSCHFGPLTWVCKPQGGGSGGGSGTLVTVSSEPKSADKTHTCPPCPAPEAA
(SEQ ID NO:65)
(QVQ)GGTYSCHFGPLTWVCKPQGGGSGGGSGTLVTVSSEPKSADKTHTCPPCPAPEAA
(SEQ ID NO:66)
(QVQ)GGTYSCHFGPLTWVCKPQGGGSGGGSGTLVTVSSEPKSADKTHTCPPCPAPELA
(SEQ ID NO:67)
(QVQ)GGTYSCHFGPLTWVCKPQGGGSGGGSGTLVTVSSEPKSADKTHTCPPCPAPEAL
(SEQ ID NO:68)
(QVQ)GGTYSCHFGPLTWVCKPQGGGSGGGSGTLVTVSSEPKSADKTHTCPPCPAPELE

IgG4 con giro de IgG1:
(SEQ ID NO:69)
(QIQ)GGTYSCHFGPLTWVCKPQGGGSGGGSGTLVTVSSEPKSSDKTHTCPPCPAPEFL

G1-G4IgG4 con diferentes longitud de enlaces:
(SEQ ID NO:70)
(QIQ)GGTYSCHFGPLTWVCKPQGGGSGTLVTVSSESKYGPPCPSCPAPEFL
(SEQ ID NO:71)

(QIQ)GGTYSCHFQPLTWVCKPQGGGSGGGSGTLVTVSSESKYGPPCPSCPAPEFL
(SEQ ID NO:72)
(QIQ)GGTYSCHFQPLTWVCKPQGGGSGGGSGTLVTVSSESKYGPPCPSCPAPEFL
(SEQ ID NO:73)
(QIQ)GGTYSCHFQPLTWVEKPQGGGSGGGSGTLVTVSSESKYGPPCPSCPAPEFL

IgG1 con giro truncado

(SEQ ID NO:74)
(QVQ)GGTYSCHFQPLTWVCKPQGGGSGGGSGTLVTVSSGPPCPAPELL
(SEQ ID NO:75)
(QVQ)GGTYSCHFQPLTWVCKPQGGGSGGGSGTLVTVSSHTGPPCPAPELL
(SEQ ID NO:76)
(QVQ)GGTYSCHFQPLTWVCKPQGGGSGGGSGTLVTVSSAKDTHTEPPCPAPELL

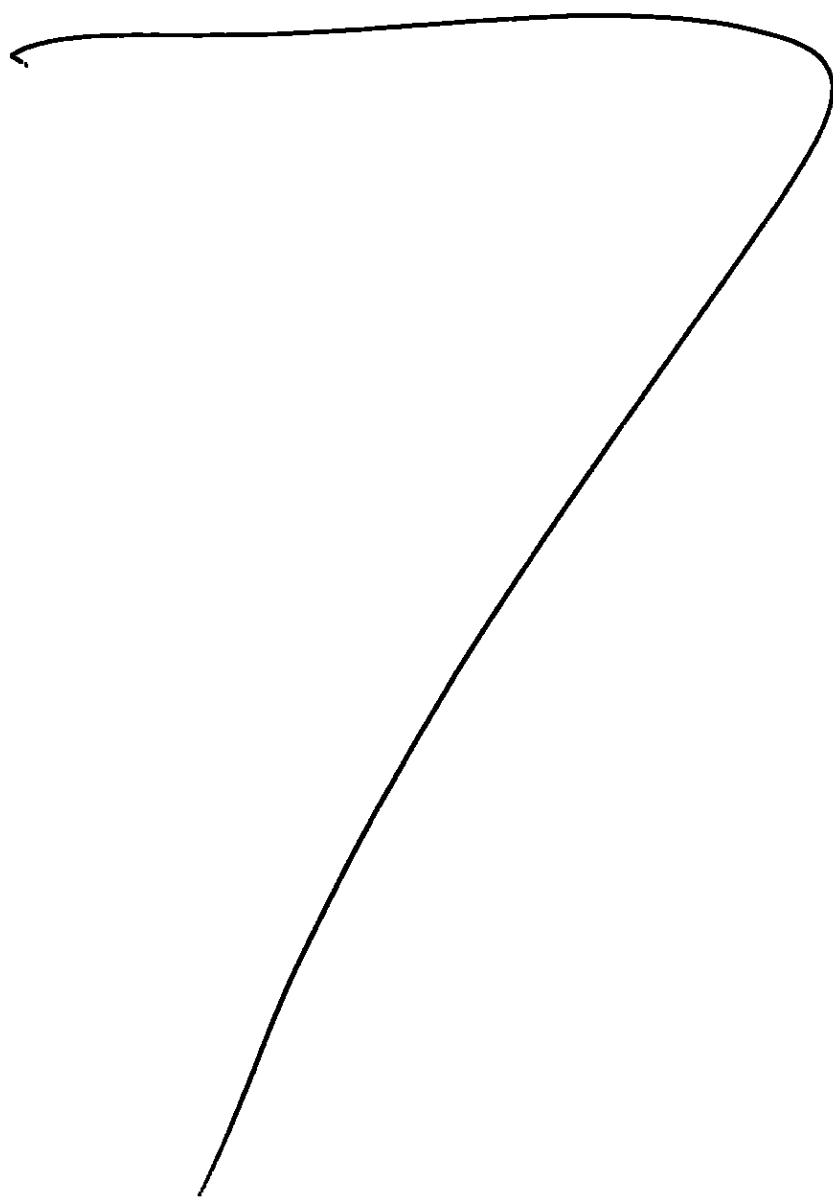
IgG1 con knock out de sitios O-glicosilación:

(SEQ ID NO:77)
(QIQ)GGTYSCHFQPLTWVCKPQGGGSGGGSGTLVTVSSEPKSADKTHACPPCPAPELL
(SEQ ID NO:78)
(QIQ)GGTYSCHFQPLTWVCKPQGGGSGGGSGTLVAVSSEPKSADKTHTEPPCPAPELL
(SEQ ID NO:79)
(QIQ)GGTYSCHFQPLTWVCKPQGGGSGGGSGTLVTVSSEPKSADKAHTCPAPELL
(SEQ ID NO:80)
(QIQ)GGTYSCHFQPLTWVCKPQGGGSGGGSGTLVAVSSEPKSADKTHACPPCPAPELL

Ventajas: la construcción novedosa, EMP-NfusCG1 descrita anteriormente, ofrece una forma alternativa de mostrar la bioactividad del péptido EMP-1. La actividad de esta construcción está en el intervalo de la rHuEPO y la vida media *in vivo* es similar a aquella de una IgG. Adicionalmente, se espera que las modificaciones propuestas, in combinación y en adición a las características novedosas de la EMP-NfusCG1, mejoren la utilidad de la construcción de EMP-NfusCG1.

10 Será claro que la invención puede ser practicada de otra manera que como se describió particularmente en la descripción anterior y ejemplos.

Son posibles numerosas modificaciones y variaciones de la presente invención a la luz de las enseñanzas anteriores y, por lo tanto, están dentro del alcance de la presente invención.



REIVINDICACIONES

1. Al menos un ácido nucleico de cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida, que comprende al menos un polinucleótido que codifica al menos una
5 secuencia de aminoácido de SEQ ID NOS: 50-51, ó un polinucleótido complementario de él.

10 2. Al menos un ácido nucleico de cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida, que comprende al menos un polinucleótido que codifica al menos una secuencia de aminoácido de SEQ ID NOS: 62-80, ó un polinucleótido complementario de él.

3. Al menos un ácido nucleico de cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida, que comprende al menos un polinucleótido que codifica de acuerdo con
15 la fórmula (I):



donde V1 es al menos de N-terminal de una porción de una región variable de inmunoglobulina, Pep es al menos un péptido de EPO mimética bioactivo, Flex es polipéptido que proporciona flexibilidad estructural para permitir que el cuerpo
20 mimético tenga orientaciones alternativas y propiedades enlazantes, V2 es al menos de una porción de un C-terminal de una región variable de inmunoglobulina, pGiro es al menos una porción de una región de giro variable de inmunoglobulina, CH2 es al menos una porción de una región constante CH2 de

inmunoglobulina, Ch3 es al menos una porción de una región constante CH3 de inmunoglobulina, n y m pueden ser enteros entre 1 y 10.

4. Al menos un polipéptido de cuerpo mimético de EPO mimética CH1
5 suprimida, que comprende todos de los aminoácidos contiguos de SEQ ID NOS:
50-51.

5. Al menos un polipéptido de cuerpo mimético de EPO mimética CH1
suprimida, que comprende todos de los aminoácidos contiguos de SEQ ID NOS:
10 62-80.

6. Al menos un polipéptido de cuerpo mimético de EPO mimética CH1
suprimida, que comprende un polipéptido de acuerdo con la Fórmula (I):



15 donde V1 es QIQ, Pep es al menos un péptido bioactivo seleccionado de SEQ ID
NOS: 1-42, Flex comprende GGGS (SEQ ID NO: 61), V2 es GTLVTVSS (SEQ ID
NO: 52),

CH2 es

SVFLFPPKPKDDLISRTPVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR

20 EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK (SEQ ID
NO: 54),

CH3 es

GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT
PPVLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLPGK
(SEQ ID NO: 55), y n y m son un entero entre 1 y 10.

5 7. Al menos un polipéptido de cuerpo mimético de EPO mimética CH1
suprimida, que comprende un polipéptido de acuerdo con la Fórmula (I):

$$(V1(n)-Pep(n)-Flex(n)-V2(n)-pGiro(n)-CH2(n)-CH3(n))(m),$$

donde V1 es QIQ, Pep es al menos un péptido bioactivo seleccionado de SEQ ID
NOS: 1-42, Flex comprende GGGS, V2 es GTLVTVSS (SEQ ID NO: 52), pGiro es

10 ESKYGPPCPSCPAPEFLGGP (SEQ ID NO: 56),

CH2 es

SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPR
EEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAK (SEQ ID
NO: 57),

15 CH3 es

GQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT
PPVLDSGDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK
(SEQ ID NO: 58) y n y m son un entero entre 1 y 10.

20 8. Al menos un polipéptido de cuerpo mimético de EPO mimética CH1
suprimida, que comprende un polipéptido de acuerdo con la Fórmula (I):

$$(V1(n)-Pep(n)-Flex(n)-V2(n)-pGiro(n)-CH2(n)-CH3(n))(m),$$

en donde V1 es una porción N-terminal de una región variable humana, Pep es al menos un péptido bioactivo seleccionado de SEQ ID NOS: 1-42, Flex es polipéptido que proporciona flexibilidad estructural que permite al cuerpo mimético tener orientaciones alternativas y propiedades enlazantes, V2 es al menos una porción de un C-terminal de una región variable de inmunoglobulina, pGiro es al menos una porción de una región de giro variable de inmunoglobulina, CH2 es SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK (SEQ ID NO: 54), CH3 es

GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 55) y n y m son un entero entre 1 y 10.

9. Al menos un polipéptido de cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida, que comprende un polipéptido de acuerdo con la Fórmula (I):

$$(V1(n)\text{-}Pep(n)\text{-}Flex(n)\text{-}V2(n)\text{-}pGiro(n)\text{-}CH2(n)\text{-}CH3(n))(m),$$

en donde V1 es una porción N-terminal de una región variable humana, Pep es al menos un péptido bioactivo seleccionado de SEQ ID NOS: 1-42, Flex es polipéptido que proporciona flexibilidad estructural que permite al cuerpo mimético tener orientaciones alternativas y propiedades enlazantes, V2 es al menos una porción de un C-terminal de una región variable de inmunoglobulina, pGiro es al menos una porción de una región de giro variable de inmunoglobulina, CH2 es

SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPR
EEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAK (SEQ ID
NO: 59), CH3 es

GQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT

5 PPVL DSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK
(SEQ ID NO: 60), y n y m son un entero entre 1 y 10.

10. Al menos un polipéptido de cuerpo mimético de EPO mimética CH1
suprimida, que comprende un polipéptido de acuerdo con la Fórmula (I):

10 $(V1(n)-Pep(n)-Flex(n)-V2(n)-pGiro(n)-CH2(n)-CH3(n))(m),$

en donde V1 es QIQ, Pep es al menos un péptido bioactivo seleccionado de SEQ
ID NOS: 1-42, Flex es polipéptido que proporciona flexibilidad estructural que
permite al cuerpo mimético tener orientaciones alternativas y propiedades
enlazantes, V2 es al menos una porción de un C-terminal de una región variable
15 de inmunoglobulina, pGiro es al menos una porción de una región de giro variable
de inmunoglobulina, CH2 es al menos una porción de una región variable CH2 de
inmunoglobulina; CH3 es al menos una porción de una región constante CH3 de
inmunoglobulina, n y m pueden ser un entero entre 1 y 10.

20 11. Al menos un polipéptido de cuerpo mimético de EPO mimética CH1
suprimida, que comprende un polipéptido de acuerdo con la Fórmula (I):

$(V1(n)-Pep(n)-Flex(n)-V2(n)-pGiro(n)-CH2(n)-CH3(n))(m),$

en donde V1 es al menos un N-terminal de una región variable de inmunoglobulina, Pep es al menos un péptido de EPO mimética bioactivo, Flex comprende GGGS (SEQ ID NO: 61), V2 es al menos una porción de un C-terminal de una región variable de inmunoglobulina, pGiro es al menos una porción de una región de giro variable de inmunoglobulina, CH2 es al menos una porción de una región constante CH2 de inmunoglobulina; CH3 es al menos una porción de una región constante CH3 de inmunoglobulina, n y m pueden ser un entero entre 1 y 10.

12. Al menos un polipéptido de cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida, que comprende un polipéptido de acuerdo con la Fórmula (I):

$$(V1(n)-Pep(n)-Flex(n)-V2(n)-pGiro(n)-CH2(n)-CH3(n))(m),$$

en donde V1 es al menos una porción de un N-terminal de una región variable de inmunoglobulina, Pep es al menos un péptido de EPO mimética bioactivo, Flex es polipéptido que proporciona flexibilidad estructural que permite al cuerpo mimético tener orientaciones alternativas y propiedades enlazantes, V2 es GTLVTVSS (SEQ ID NO: 52), pGiro es al menos una porción de una región de giro variable de inmunoglobulina, CH2 es al menos una porción de una región constante CH2 de inmunoglobulina, CH3 es al menos una porción de una región constante CH3 de inmunoglobulina, n y m pueden ser un entero entre 1 y 10.

13. Al menos un polipéptido de cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida, que comprende un polipéptido de acuerdo con la Fórmula (I):

$(V1(n)-Pep(n)-Flex(n)-V2(n)-pGiro(n)-CH2(n)-CH3(n))(m),$

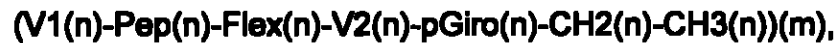
en donde V1 es al menos una porción de un N-terminal de una región variable de inmunoglobulina, Pep es al menos un péptido de EPO mimética bioactivo, Flex es polipéptido que proporciona flexibilidad estructural que permite al cuerpo mimético tener orientaciones alternativas y propiedades enlazantes, V2 es al menos una porción de un C-terminal de una región variable de inmunoglobulina, pGiro es EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGP (SEQ ID NO:53), CH2 es al menos una porción de una región constante CH2 de inmunoglobulina, CH3 es al menos una porción de una región constante CH3 de inmunoglobulina, n y m pueden ser un entero entre 1 y 10.

14. Al menos un polipéptido de cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida, que comprende un polipéptido de acuerdo con la Fórmula (I):

$(V1(n)-Pep(n)-Flex(n)-V2(n)-pGiro(n)-CH2(n)-CH3(n))(m),$

en donde V1 es al menos una porción de un N-terminal de una región variable de inmunoglobulina, Pep es al menos un péptido de EPO mimética bioactivo, Flex es polipéptido que proporciona flexibilidad estructural que permite al cuerpo mimético tener orientaciones alternativas y propiedades enlazantes, V2 es al menos una porción de un C-terminal de una región variable de inmunoglobulina, pGiro es al menos una porción de una región de giro variable de inmunoglobulina, CH2 es al menos una porción de una región constante CH2 de inmunoglobulina, CH3 es al menos una porción de una región constante CH3 de inmunoglobulina, n y m pueden ser un entero entre 1 y 10.

15. Al menos un polipéptido de cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida, que comprende un polipéptido de acuerdo con la Fórmula (I):



en donde V1 es al menos una porción de un N-terminal de una región variable de
5 inmunoglobulina, Pep es al menos un péptido bioactivo seleccionado de SEQ ID
NOS: 21-42, Flex es polipéptido que proporciona flexibilidad estructural que
permite al cuerpo mimético tener orientaciones alternativas y propiedades
enlazantes, V2 es al menos una porción de un C-terminal de una región variable
de inmunoglobulina, pGiro es al menos una porción de una región de giro variable
10 de inmunoglobulina, CH2 es al menos una porción de una región constante CH2
de inmunoglobulina, CH3 es al menos una porción de una región constante CH3
de inmunoglobulina, n y m pueden ser un entero entre 1 y 10.

16. Un ácido nucleico de cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida (n)
15 o polipéptido de cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida de acuerdo con
cualquiera de las reivindicaciones 1-15, en donde dicho polipéptido tiene al menos
una actividad de al menos un Pep polipéptido.

17. Un anti-idiotipo monoclonal o anticuerpo policlonal, proteína de fusión o
20 fragmento del mismo, que une específicamente al menos a un polipéptido de
cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida, de acuerdo con cualquiera de
las reivindicaciones 1-15.

18. Un ácido nucleico de cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida, que codifica al menos un polipéptido de cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o anticuerpo de cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-17.

5

19. Un vector de cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida que comprende al menos ácido nucleico aislado de acuerdo con la reivindicación 18.

20. Una célula huésped de cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida
10 que comprende un ácido nucleico aislado de acuerdo con la reivindicación 18.

21. Una célula huésped de cuerpo mimético de EPO mimética CH1 uprimida de acuerdo con la reivindicación 20, en donde dicha célula huésped es al menos una seleccionada de COS-1, Cos-7, HEK293, BHK21, CHO, BSC-1, Hep G2, 653,
15 SP2/0, 293, NSO, DG44 CHO, CHO K1, HeLa, células de mieloma o linfoma, o cualquier derivado, célula inmortalizada o transformada de la misma.

22. Un método para la producción de al menos un polipéptido de cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o anticuerpo de cuerpo mimético de
20 EPO mimética CH1 suprimida, que comprende trasladar un ácido nucleico de acuerdo con la reivindicación 18, bajo condiciones in vitro, in vivo o in situ, tal que el cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida o anticuerpo se expresa en cantidades detectables o recuperables.

23. Una composición que comprende al menos un ácido nucleico de cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida, polipéptido de cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida, ó anticuerpo de cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-17.

24. Una composición de acuerdo con la reivindicación 23, en donde dicha composición además comprende al menos un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable.

10

25. Una composición de acuerdo con la reivindicación 23, que además comprende al menos una composición que comprende una cantidad farmacéuticamente efectiva de al menos un compuesto, composición o polipéptido seleccionado de al menos una etiqueta detectable o reportero, un antagonista de TNF, un medicamento anti-infectivo, un medicamento de sistema cardiovascular (CV), un medicamento del sistema nervioso central (CNS), un medicamento del sistema nervioso automático (ANS), un medicamento del tracto respiratorio, un medicamento del tracto gastrointestinal (GI), un medicamento hormonal, un medicamento o fluido o balance de electrolito, un medicamento hematológico, un antineoplástico, un medicamento de inmunomodulación, un medicamento oftálmico, ótico o nasal, un medicamento tópico, un medicamento nutricional, una citoquina ó un antagonista de citoquina.

Una composición de acuerdo con la reivindicación 23, en una forma de al menos una seleccionada de un líquido, gas, o seca, solución, mezcla, suspensión, emulsión o coloide, una preparación liofilizada o un polvo.

5 **27.** Un método para diagnosticar o tratar una condición relacionada con ligando de EPO en una célula, tejido, órgano o animal, que comprende

(a) contactar o administrar una composición que comprende una cantidad efectiva de al menos un ácido nucleico, polipéptido o anticuerpo de cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida, de acuerdo con cualquiera de
10 las reivindicaciones 1-17, con, o a, dicha célula, tejido, órgano o animal.

28. Un método de acuerdo con la reivindicación 27, en donde dicha cantidad efectiva es 0.001-50 mg de anticuerpo de cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida; 0.000001-500 mg de dicho cuerpo mimético de EPO mimética CH1
15 suprimida; o 0.0001-100 µg de dicho ácido nucleico de cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida por kilogramo de dichas células, tejido, órgano o animal.

29. Un método de acuerdo con la reivindicación 27, en donde dicho contacto o dicha administración es por al menos un modo seleccionado de parenteral,
20 subcutáneo, intramuscular, intravenoso, intrarticular, intrabronquial, intraabdominal, intracapsular, intracartilagenoso, intracavitario, intracelial, intracelebelar, intracerebroventricular, intracólico, intracervical, intragástrico,

intrahepático, intramiocardial, intraoesteal, intrapélvico, intrapericardiaco, intraperitoneal, intrapleural, intraprostático, intrapulmonar, intrarrectal, intrarrenal, intrarretinal, intraespinal, intrasinovial, intratorácico, intrauterino, intravesical, intralesional, bolo, vaginal, rectal, bucal, sublingual, intranasal, o transdérmico.

5

30. Un método de acuerdo con la reivindicación 27, que además comprende administrar, antes, concurrentemente o después de dicho (a) contacto o administración, de al menos una composición que comprende una cantidad efectiva de al menos un compuesto, o polipéptido seleccionado de al menos uno
10 de una etiqueta o reportero, un antagonista de TNF, un medicamento anti-infectivo, un medicamento de sistema cardiovascular (CV), un medicamento del sistema nervioso central (CNS), un medicamento del sistema nervioso automático (ANS), un medicamento del tracto respiratorio, un medicamento del tracto gastrointestinal (GI), un medicamento hormonal, un medicamento o fluido o
15 balance de electrolito, un medicamento hematológico, un antineoplástico, un medicamento de inmunomodulación, un medicamento oftálmico,ótico o nasal, un medicamento tópico, un medicamento nutricional, una citoquina ó un antagonista de citoquina.

20 31. Un dispositivo que comprende al menos un polipéptido, anticuerpo o ácido nucleico de cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimido, de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-17, en donde dicho dispositivo es adecuado para contactar o administrar dicha al menos una de dicho polipéptido, anticuerpo o

ácido nucleico de cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida, por al menos un modo seleccionado de parenteral, subcutáneo, intramuscular, intravenoso, intrarticular, intrabronquial, intraabdominal, intracapsular, intracartilagenoso, intracavitario, intracelial, intracelebelar, intracerebroventricular, intracólico, intracervical, intragástrico, intrahepático, intramiocardial, intraosteal, intrapélvico, intrapericardiaco, intraperitoneal, intrapleural, intraprostático, intrapulmonar, intrarrectal, intrarrenal, intrarretinal, intraespinal, intrasinovial, intratorácico, intrauterino, intravesical, intralesional, bolo, vaginal, rectal, bucal, sublingual, intranasal, o transdérmico.

10

32. Un artículo de fabricación para farmacéutico humano o uso de diagnóstico, que comprende material empacado y un recipiente que comprende al menos un polipéptido, anticuerpo o ácido nucleico de cuerpo mimético aislado de EPO mimética CH1 suprimida de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-17.

15

33. El artículo de fabricación de la reivindicación 34, en donde dicho recipiente es un componente de un dispositivo o sistema de suministro parenteral, subcutáneo, intramuscular, intravenoso, intrarticular, intrabronquial, intraabdominal, intracapsular, intracartilagenoso, intracavitario, intracelial, intracelebelar, intracerebroventricular, intracólico, intracervical, intragástrico, intrahepático, intramiocardial, intraosteal, intrapélvico, intrapericardiaco, intraperitoneal, intrapleural, intraprostático, intrapulmonar, intrarrectal, intrarrenal,

20

intrarretinal, intraespinal, intrasinovial, intratorácico, intrauterino, intravesical, intralesional, bolo, vaginal, rectal, bucal, sublingual, intranasal, o transdérmico.

34. Un método para producir al menos al menos un polipéptido, anticuerpo o
5 ácido nucleico de cuerpo mimético aislado de EPO mimética CH1 suprimida de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-17, que comprende proporcionar al menos una célula huésped, animal transgénico, planta transgénica, célula de planta capaz de expresar en cantidades detectables o recuperables dicho polipéptido, anticuerpo o ácido nucleico.

10

35. Al menos un polipéptido, anticuerpo o ácido nucleico de cuerpo mimético de EPO mimética CH1 suprimida, producido por un método de acuerdo con la reivindicación 34.

125
197

LISTA DE SECUENCIAS

<110> Heaver, George A.; Knight, David M.; Ghayeb, John; Scallon, Bernard J.;
Nesspor, Thomas C.; Centocor, Inc.

<120> Cuerpos miméticos de EPO mimética mamífera CH1 suprimida, composiciones,
métodos y usos.

<130> CEN0311

<140> 10/609,783

<141> 2003-06-30

<150> 60/412,144

<151> 2002/09/12

<160> 80

<170> PatentIn version 3.3

<210> 1

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> péptido

<220>

<221> característica misc

<222> (2)..(2)

<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de ocurrencia natural

<220>

<221> característica misc

<222> (4)..(5)

<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de ocurrencia natural

<220>

<221> característica misc

<222> (8)..(8)

<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de ocurrencia natural

<220>

<221> característica misc

<222> (11)..(11)

<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de ocurrencia natural

<220>

<221> característica misc

<222> (13)..(13)

<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de ocurrencia natural

<400> 1

196
198

Tyr Xaa Cys Xaa Xaa Gly Pro Xaa Thr Trp Xaa Cys Xaa Pro
1 5 10

<210> 2
<211> 28
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> péptido

<220>
<221> característica misc
<222> (2)..(2)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de ocurrencia natural

<220>
<221> característica misc
<222> (4)..(5)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de ocurrencia natural

<220>
<221> característica misc
<222> (8)..(8)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de ocurrencia natural

<220>
<221> característica misc
<222> (11)..(11)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de ocurrencia natural

<220>
<221> característica misc
<222> (13)..(13)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de ocurrencia natural

<220>
<221> característica misc
<222> (16)..(16)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de ocurrencia natural

<220>
<221> característica misc
<222> (18)..(19)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de ocurrencia natural

<220>
<221> característica misc
<222> (22)..(22)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de ocurrencia natural

<220>
<221> característica misc
<222> (25)..(25)

<220>
<221> característica misc
<222> (16)..(16)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de ocurrencia natural

<220>
<221> característica misc
<222> (18)..(19)

<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de ocurrencia natural

<220>

<221> característica misc

<222> (27)..(27)

<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de ocurrencia natural

<400> 2

Tyr	Xaa	Cys	Xaa	Xaa	Gly	Pro	Xaa	Thr	Trp	Xaa	Cys	Xaa	Pro	Tyr	Xaa
1				5					10					15	

Cys	Xaa	Xaa	Gly	Pro	Xaa	Thr	Trp	Xaa	Cys	Xaa	Pro
			20				25				

<210> 3

<211> 28

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> péptido

<220>

<221> característica misc

<222> (2)..(2)

<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de ocurrencia natural

<220>

<221> característica misc

<222> (4)..(5)

<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de ocurrencia natural

<220>

<221> característica misc

<222> (8)..(8)

<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de ocurrencia natural

<220>

<221> característica misc

<222> (11)..(11)

<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de ocurrencia natural

<220>

<221> característica misc

<222> (13)..(13)

<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de ocurrencia natural

<220>

<221> característica misc

<222> (16)..(16)

<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de ocurrencia natural

<220>

<221> característica misc

<222> (18)..(19)

<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de ocurrencia natural

<220>
<221> característica misc
<222> (22)..(22)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de ocurrencia natural

<220>
<221> característica misc
<222> (25)..(25)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de ocurrencia natural

<220>
<221> característica misc
<222> (27)..(27)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de ocurrencia natural

<400> 3

Tyr Xaa Cys Xaa Xaa Gly Pro Xaa Thr Trp Xaa Cys Xaa Pro Tyr Xaa
1 5 10 15

Cys Xaa Xaa Gly Pro Xaa Thr Trp Xaa Cys Xaa Pro
20 25

<210> 4
<211> 28
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> péptido

<220>
<221> característica misc
<222> (2)..(2)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de ocurrencia natural

<220>
<221> característica misc
<222> (4)..(5)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de ocurrencia natural

<220>
<221> característica misc
<222> (8)..(8)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de ocurrencia natural

<220>
<221> característica misc
<222> (11)..(11)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de ocurrencia natural

<220>
<221> característica misc

199
201

<222> (13)..(13)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de ocurrencia natural

<220>
<221> característica misc
<222> (16)..(16)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de ocurrencia natural

<220>
<221> característica misc
<222> (18)..(19)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de ocurrencia natural

<220>
<221> característica misc
<222> (22)..(22)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de ocurrencia natural

<220>
<221> característica misc
<222> (25)..(25)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de ocurrencia natural

<220>
<221> característica misc
<222> (27)..(27)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de ocurrencia natural

<400> 4

Tyr Xaa Cys Xaa Xaa Gly Pro Xaa Thr Trp Xaa Cys Xaa Pro Tyr Xaa
1 5 10 15

Cys Xaa Xaa Gly Pro Xaa Thr Trp Xaa Cys Xaa Pro
20 25

<210> 5
<211> 20
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 5

Gly Gly Thr Tyr Ser Cys His Phe Gly Pro Leu Thr Trp Val Cys Lys
1 5 10 15

Pro Gln Gly Gly
20

<210> 6
<211> 20
<212> PRT
<213> Homo sapiens

220
202

<400> 6

Gly Gly Asp Tyr His Cys Arg Met Gly Pro Leu Thr Trp Val Cys Lys
1 5 10 15

Pro Leu Gly Gly
20

<210> 7

<211> 20

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 7

Gly Gly Val Tyr Ala Cys Arg Met Gly Pro Ile Thr Trp Val Cys Ser
1 5 10 15

Pro Leu Gly Gly
20

<210> 8

<211> 20

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 8

Val Gly Asn Tyr Met Cys His Phe Gly Pro Ile Thr Trp Val Cys Arg
1 5 10 15

Pro Gly Gly Gly
20

<210> 9

<211> 20

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 9

Gly Gly Leu Tyr Leu Cys Arg Phe Gly Pro Val Thr Trp Asp Cys Gly
1 5 10 15

Tyr Lys Gly Gly
20

<210> 10

201
203

<211> 20
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 10

Gly Gly Thr Tyr Ser Cys His Phe Gly Pro Leu Thr Trp Val Cys Lys
1 5 10 15

Pro Gln Gly Gly
20

<210> 11
<211> 40
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 11

Gly Gly Thr Tyr Ser Cys His Phe Gly Pro Leu Thr Trp Val Cys Lys
1 5 10 15

Pro Gln Gly Gly Gly Gly Thr Tyr Ser Cys His Phe Gly Pro Leu Thr
20 25 30

Trp Val Cys Lys Pro Gln Gly Gly
35 40

<210> 12
<211> 23
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 12

Gly Gly Thr Tyr Ser Cys His Phe Gly Pro Leu Thr Trp Val Cys Lys
1 5 10 15

Pro Gln Gly Gly Ser Ser Lys
20

<210> 13
<211> 23
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 13

Gly Gly Thr Tyr Ser Cys His Phe Gly Pro Leu Thr Trp Val Cys Lys
1 5 10 15

202
204

Pro Gln Gly Gly Ser Ser Lys
20

<210> 14
<211> 23
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 14

Gly Gly Thr Tyr Ser Cys His Phe Gly Pro Leu Thr Trp Val Cys Lys
1 5 10 15

Pro Gln Gly Gly Ser Ser Lys
20

<210> 15
<211> 46
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 15

Gly Gly Thr Tyr Ser Cys His Phe Gly Pro Leu Thr Trp Val Cys Lys
1 5 10 15

Pro Gln Gly Gly Ser Ser Lys Gly Gly Thr Tyr Ser Cys His Phe Gly
20 25 30

Pro Leu Thr Trp Val Cys Lys Pro Gln Gly Gly Ser Ser Lys
35 40 45

<210> 16
<211> 23
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 16

Gly Gly Thr Tyr Ser Cys His Phe Gly Pro Leu Thr Trp Val Cys Lys
1 5 10 15

Pro Gln Gly Gly Ser Ser Lys
20

<210> 17
<211> 10

203
205

<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> péptido

<220>
<221> característica misc
<222> (2)..(3)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de ocurrencia natural

<220>
<221> característica misc
<222> (6)..(6)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de ocurrencia natural

<220>
<221> característica misc
<222> (9)..(9)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de ocurrencia natural

<400> 17

Cys Xaa Xaa Gly Pro Xaa Thr Trp Xaa Cys
1 5 10

<210> 18
<211> 19
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 18

Gly Gly Thr Tyr Ser Cys His Gly Pro Leu Thr Trp Val Cys Lys Pro
1 5 10 15

Gln Gly Gly

<210> 19
<211> 19
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 19

Val Gly Asn Tyr Met Ala His Met Gly Pro Ile Thr Trp Val Cys Arg
1 5 10 15

Pro Gly Gly

204
206

<210> 20
<211> 18
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 20

Gly Gly Pro His His Val Tyr Ala Cys Arg Met Gly Pro Leu Thr Trp
1 5 10 15

Ile Cys

<210> 21
<211> 18
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 21

Gly Gly Thr Tyr Ser Cys His Phe Gly Pro Leu Thr Trp Val Cys Lys
1 5 10 15

Pro Gln

<210> 22
<211> 20
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 22

Gly Gly Leu Tyr Ala Cys His Met Gly Pro Met Thr Trp Val Cys Gln
1 5 10 15

Pro Leu Arg Gly
20

<210> 23
<211> 22
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 23

Thr Ile Ala Gln Tyr Ile Cys Tyr Met Gly Pro Glu Thr Trp Glu Cys
1 5 10 15

205
207

Arg Pro Ser Pro Lys Ala
20

<210> 24
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 24

Tyr Ser Cys His Phe Gly Pro Leu Thr Trp Val Cys Lys
1 5 10

<210> 25
<211> 11
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 25

Tyr Cys His Phe Gly Pro Leu Thr Trp Val Cys
1 5 10

<210> 26
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> péptido

<220>
<221> característica misc
<222> (1)..(3)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de ocurrencia natural

<220>
<221> característica misc
<222> (6)..(6)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de ocurrencia natural

<220>
<221> característica misc
<222> (9)..(10)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de ocurrencia natural

<400> 26

Xaa Xaa Xaa Gly Pro Xaa Thr Trp Xaa Xaa
1 5 10

206
208

<210> 27
<211> 12
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> péptido

<220>
<221> característica misc
<222> (2)..(5)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de ocurrencia natural

<220>
<221> característica misc
<222> (8)..(8)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de ocurrencia natural

<220>
<221> característica misc
<222> (11)..(12)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de ocurrencia natural

<400> 27

Tyr Xaa Xaa Xaa Xaa Gly Pro Xaa Thr Trp Xaa Xaa
1 5 10

<210> 28
<211> 14
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> péptido

<220>
<221> característica misc
<222> (1)..(1)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de ocurrencia natural

<220>
<221> característica misc
<222> (3)..(6)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de ocurrencia natural

<220>
<221> característica misc
<222> (9)..(14)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de ocurrencia natural

<400> 28

Xaa Tyr Xaa Xaa Xaa Xaa Gly Pro Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

1

5

10

```
<210> 29
<211> 16
<212> PRT
<213> Artificial
```

<220>
<223> péptido

```
<220>
<221>  característica misc
<222>  (1)..(1)
<223>  Xaa puede ser cualquier aminoácido de ocurrencia natural
```

```
<220>
<221> característica misc
<222> (3)..(3)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de ocurrencia natural
```

```
<220>
<221>  característica misc
<222>  (5)..(6)
<223>  Xaa puede ser cualquier aminoácido de ocurrencia natural
```

```
<220>
<221>  característica misc
<222>  (9)..(9)
<223>  Xaa puede ser cualquier aminoácido de ocurrencia natural
```

```
<220>
<221>  característica misc
<222>  (12)..(12)
<223>  Xaa puede ser cualquier aminoácido de ocurrencia natural
```

```
<220>
<221>  característica misc
<222>  (14)..(16)
<223>  Xaa puede ser cualquier aminoácido de ocurrencia natural
```

<400> 29

Xaa Tyr Xaa Cys Xaa Xaa Gly Pro Xaa Thr Trp Xaa Cys Xaa Xaa Xaa
1 5 10 15

```
<210> 30
<211> 20
<212> PRT
<213> Homo sapiens
```

<400> 30

Gly Gly Leu Tyr Leu Cys Arg Phe Gly Pro Val Thr Trp Asp Cys Gly
1 5 10 15

Tyr Lys Gly Gly
20

<210> 31
<211> 20
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 31

Gly Gly Thr Tyr Ser Cys His Phe Gly Pro Leu Thr Trp Val Cys Lys
1 5 10 15

Pro Gln Gly Gly
20

<210> 32
<211> 20
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 32

Gly Gly Asp Tyr His Cys Arg Met Gly Pro Leu Thr Trp Val Cys Lys
1 5 10 15

Pro Leu Gly Gly
20

<210> 33
<211> 20
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 33

Val Gly Asn Tyr Met Cys His Phe Gly Pro Ile Thr Trp Val Cys Arg
1 5 10 15

Pro Gly Gly Gly
20

<210> 34
<211> 20
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 34

209
211

Gly Gly Val Tyr Ala Cys Arg Met Gly Pro Ile Thr Trp Val Cys Ser
1 5 10 15

Pro Leu Gly Gly
20

<210> 35
<211> 19
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 35

Val Gly Asn Tyr Met Ala His Met Gly Pro Ile Thr Trp Val Cys Arg
1 5 10 15

Pro Gly Gly

<210> 36
<211> 18
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 36

Gly Gly Thr Tyr Ser Cys His Phe Gly Pro Leu Thr Trp Val Cys Lys
1 5 10 15

Pro Gln

<210> 37
<211> 21
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 37

Gly Gly Leu Tyr Ala Cys His Met Gly Pro Met Thr Ala Ile Val Cys
1 5 10 15

Gln Pro Leu Arg Gly
20

<210> 38
<211> 22
<212> PRT

210
212

<213> Homo sapiens

<400> 38

Thr Ile Ala Gln Tyr Ile Cys Tyr Met Gly Pro Glu Thr Trp Glu Cys
1 5 10 15

Arg Pro Ser Pro Lys Ala
20

<210> 39

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 39

Tyr Ser Cys His Phe Gly Pro Leu Thr Trp Val Cys Lys
1 5 10

<210> 40

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 40

Tyr Cys His Phe Gly Pro Leu Thr Trp Val Cys
1 5 10

<210> 41

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 41

Ser Cys His Phe Gly Pro Leu Thr Trp Val Cys Lys
1 5 10

<210> 42

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> péptido

<220>

<221> característica misc

<222> (2)..(2)

<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de ocurrencia natural

<220>

<221> característica misc

<222> (4)..(6)

<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de ocurrencia natural

<220>

<221> característica misc

<222> (9)..(9)

<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de ocurrencia natural

<220>

<221> característica misc

<222> (12)..(13)

<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de ocurrencia natural

<400> 42

Ala Xaa Asn Xaa Xaa Xaa Gly Pro Xaa Thr Trp Xaa Xaa
1 5 10

<210> 43

<211> 100

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 43

tacaggcccca gatccagggc ggtacctaca gctgccactt cgggcccctc acgtgggtgt 60

gcaagcccca gggcggcgga agcgggggag gctccgtac 100

<210> 44

<211> 96

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 44

cggagcctcc cccgcttccg ccgccctggg gcttgcacac ccacgtgagg ggcccgaagt 60

ggcagctgta ggtaccgccc tggatctggg cctgta 96

<210> 45

<211> 85

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 45

tacaggcccca gggcgggtacc tacagctgcc acttcgggcc cctcacgtgg gtgtgcaagc 60

cccagggcgg cggatcaggt aagtt 85

212
214

<210> 46
<211> 89
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 46
ctagaactta cctgatccgc cgccctgggg cttgcacacc cacgtgaggg gcccgaagtg 60

gcagctgtag gtaccgccct gggcctgta 89

<210> 47
<211> 35
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 47

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

Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
20 25 30

Arg Val Val
35

<210> 48
<211> 51
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 48

Gln Ile Gln Gly Gly Thr Tyr Ser Cys His Phe Gly Pro Leu Thr Trp
1 5 10 15

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

Val Thr Val Ser Ser Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys
35 40 45

Pro Pro Cys
50

<210> 49
<211> 51
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 49

Gln Ile Gln Gly Gly Thr Tyr Ser Cys His Phe Gly Pro Leu Thr Trp
1 5 10 15

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

Val Thr Val Ser Ser Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys
35 40 45

Pro Pro Cys
50

<210> 50
<211> 269
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 50

Gln Ile Gln Gly Gly Thr Tyr Ser Cys His Phe Gly Pro Leu Thr Trp
1 5 10 15

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

Val Thr Val Ser Ser Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys
35 40 45

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
50 55 60

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
65 70 75 80

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
85 90 95

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
100 105 110

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
115 120 125

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
130 135 140

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
145 150 155 160

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
165 170 175

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
180 185 190

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
195 200 205

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
210 215 220

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
225 230 235 240

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
245 250 255

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
260 265

<210> 51
<211> 266
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 51

Gln Ile Gln Gly Gly Thr Tyr Ser Cys His Phe Gly Pro Leu Thr Trp
1 5 10 15

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

Val Thr Val Ser Ser Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys
35 40 45

Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro

215
217

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

<210> 52
<211> 37

216
28

<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 52

Gln Ile Gln Gly Gly Thr Tyr Ser Cys His Phe Gly Pro Leu Thr Trp
1 5 10 15

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

Val Thr Val Ser Ser
35

<210> 53
<211> 25
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 53

Gln Ile Gln Gly Gly Thr Tyr Ser Cys His Phe Gly Pro Leu Thr Trp
1 5 10 15

Val Cys Lys Pro Gln Gly Gly Gly Ser
20 25

<210> 54
<211> 102
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 54

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
1 5 10 15

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
20 25 30

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
35 40 45

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
50 55 60

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
65 70 75 80

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
85 90 95

Thr Ile Ser Lys Ala Lys
100

<210> 55
<211> 107
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 55

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp
1 5 10 15

Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
20 25 30

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
35 40 45

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
50 55 60

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
65 70 75 80

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
85 90 95

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
100 105

<210> 56
<211> 20
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 56

Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro Glu Phe
1 5 10 15

Leu Gly Gly Pro

248
220

20

<210> 57
<211> 102
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 57

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
1 5 10 15

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp
20 25 30

Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
35 40 45

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val
50 55 60

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
65 70 75 80

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys
85 90 95

Thr Ile Ser Lys Ala Lys
100

<210> 58
<211> 107
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 58

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu
1 5 10 15

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
20 25 30

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
35 40 45

219
221

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
50 55 60

Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly
65 70 75 80

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
85 90 95

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
100 105

<210> 59
<211> 102
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 59

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
1 5 10 15

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp
20 25 30

Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
35 40 45

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val
50 55 60

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
65 70 75 80

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys
85 90 95

Thr Ile Ser Lys Ala Lys
100

<210> 60
<211> 107
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 60

220
222

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu
1 5 10 15

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
20 25 30

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
35 40 45

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
50 55 60

Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly
65 70 75 80

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
85 90 95

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
100 105

<210> 61
<211> 4
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 61

Gly Gly Gly Ser
1

<210> 62
<211> 54
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 62

Gly Gly Thr Tyr Ser Cys His Phe Gly Pro Leu Thr Trp Val Cys Lys
1 5 10 15

Pro Gln Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Thr Leu Val Thr Val
20 25 30

Ser Ser Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
35 40 45

221
223

Pro Ala Pro Glu Leu Leu
50

<210> 63
<211> 57
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 63

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

Val Ser Lys Pro Gln Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Thr Leu
20 25 30

Val Thr Val Ser Ser Glu Pro Lys Ser Ala Asp Lys Thr His Thr Cys
35 40 45

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala
50 55

<210> 64
<211> 57
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 64

Gln Ile Gln Gly Gly Thr Tyr Ser Cys His Phe Gly Pro Leu Thr Trp
1 5 10 15

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

Val Thr Val Ser Ser Glu Pro Lys Ser Ala Asp Lys Thr His Thr Cys
35 40 45

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala
50 55

<210> 65
<211> 57
<212> PRT
<213> Homo sapiens

782
224

<400> 65

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

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

Val Thr Val Ser Ser Glu Pro Lys Ser Ala Asp Lys Thr His Thr Cys
35 40 45

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala
50 55

<210> 66

<211> 57

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 66

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

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

Val Thr Val Ser Ser Glu Pro Lys Ser Ala Asp Lys Thr His Thr Cys
35 40 45

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Ala
50 55

<210> 67

<211> 57

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 67

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

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

Val Thr Val Ser Ser Glu Pro Lys Ser Ala Asp Lys Thr His Thr Cys

223
225

35 40 45

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Leu
50 55

<210> 68
<211> 57
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 68

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

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

Val Thr Val Ser Ser Glu Pro Lys Ser Ala Asp Lys Thr His Thr Cys
35 40 45

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Glu
50 55

<210> 69
<211> 57
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 69

Gln Ile Gln Gly Gly Thr Tyr Ser Cys His Phe Gly Pro Leu Thr Trp
1 5 10 15

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

Val Thr Val Ser Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
35 40 45

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu
50 55

<210> 70
<211> 50
<212> PRT
<213> Homo sapiens

224
226

<400> 70

Gln Ile Gln Gly Gly Thr Tyr Ser Cys His Phe Gly Pro Leu Thr Trp
1 5 10 15

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

Ser Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro Glu
35 40 45

Phe Leu
50

<210> 71

<211> 54

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 71

Gln Ile Gln Gly Gly Thr Tyr Ser Cys His Phe Gly Pro Leu Thr Trp
1 5 10 15

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

Val Thr Val Ser Ser Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys
35 40 45

Pro Ala Pro Glu Phe Leu
50

<210> 72

<211> 56

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 72

Gln Ile Gln Gly Gly Thr Tyr Ser Cys His Phe Gly Pro Leu Thr Trp
1 5 10 15

Val Cys Lys Pro Gln Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
20 25 30

225
227

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro
35 40 45

Ser Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu
50 55

<210> 73
<211> 58
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 73

Gln Ile Gln Gly Gly Thr Tyr Ser Cys His Phe Gly Pro Leu Thr Trp
1 5 10 15

Val Cys Lys Pro Gln Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
20 25 30

Ser Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro
35 40 45

Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu
50 55

<210> 74
<211> 47
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 74

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

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

Val Thr Val Ser Ser Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
35 40 45

<210> 75
<211> 50
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 75

226
278

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

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

Val Thr Val Ser Ser Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
35 40 45

Leu Leu
50

<210> 76
<211> 53
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 76

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

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

Val Thr Val Ser Ser Ala Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
35 40 45

Ala Pro Glu Leu Leu
50

<210> 77
<211> 57
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 77

Gln Ile Gln Gly Gly Thr Tyr Ser Cys His Phe Gly Pro Leu Thr Trp
1 5 10 15

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

Val Thr Val Ser Ser Glu Pro Lys Ser Ala Asp Lys Thr His Ala Cys
35 40 45

227
229

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
50 55

<210> 78
<211> 57
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 78

Gln Ile Gln Gly Gly Thr Tyr Ser Cys His Phe Gly Pro Leu Thr Trp
1 5 10 15

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

Val Ala Val Ser Ser Glu Pro Lys Ser Ala Asp Lys Thr His Thr Cys
35 40 45

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
50 55

<210> 79
<211> 57
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 79

Gln Ile Gln Gly Gly Thr Tyr Ser Cys His Phe Gly Pro Leu Thr Trp
1 5 10 15

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

Val Thr Val Ser Ser Glu Pro Lys Ser Ala Asp Lys Ala His Thr Cys
35 40 45

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
50 55

<210> 80
<211> 57
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 80

228
230

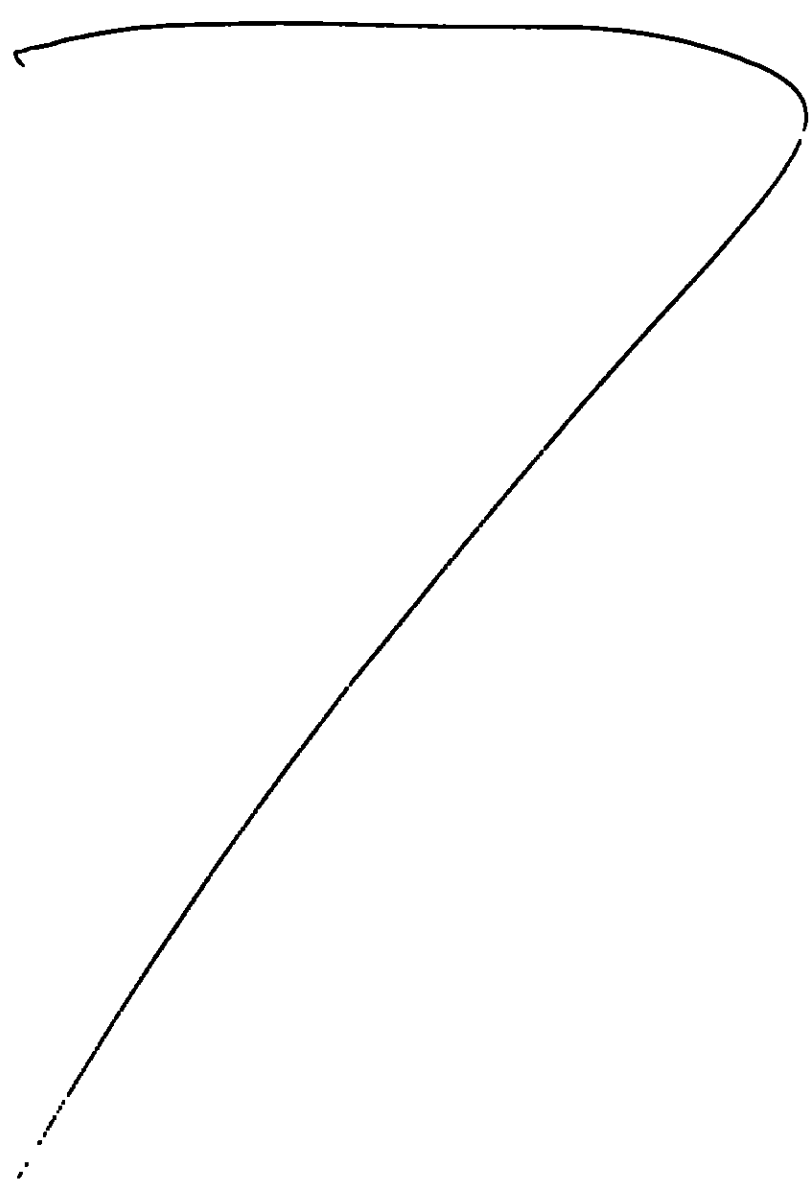
Gln Ile Gln Gly Gly Thr Tyr Ser Cys His Phe Gly Pro Leu Thr Trp
1 5 10 15

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

Val Ala Val Ser Ser Glu Pro Lys Ser Ala Asp Lys Thr His Ala Cys
35 40 45

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
50 55

/



229
231

PCT REQUEST

CEN311PCT

Draft (NOT for submission) - printed on 25.06.2003 12:31:31 PM

0	For receiving Office use only	
0-1	International Application No.	
0-2	International Filing Date	
0-3	Name of receiving Office and "PCT International Application"	
0-4	Form - PCT/ROH01 PCT Request	
0-4-1	Prepared using	PCT-EASY Version 2.92 (updated 01.04.2003)
0-5	Petition The undersigned requests that the present international application be processed according to the Patent Cooperation Treaty	
0-6	Receiving Office (specified by the applicant)	United States Patent and Trademark Office (USPTO) (RO/US)
0-7	Applicant's or agent's file reference	CEN311PCT
I	Title of invention	MAMMALIAN EPO MIMETIC CH1 DELETED MIMETIBODIES, COMPOSITIONS, METHODS AND USES
II	Applicant	
II-1	This person is:	applicant only
II-2	Applicant for	all designated States
II-4	Name	CENTOCOR, INC.
II-5	Address:	200 GREAT VALLEY PARKWAY CHESTER COUNTY MALVERN, PA 19355 United States of America
II-6	State of nationality	US
II-7	State of residence	US
II-8	Telephone No.	610-651-6000
II-9	Facsimile No.	732-524-2808
II-10	e-mail	ktownse2@corus.jnj.com
II-11	Applicant's registration No. with the Office	34,033
III-1	Applicant and/or inventor	
III-1-1	This person is:	inventor only
III-1-4	Name (LAST, First)	HEAVNER, George, A
III-1-5	Address:	6 Oak Glen Drive Malvern, PA 19355 United States of America

230
232

PCT REQUEST

CEN011PCT

Draft (NOT for submission) - printed on 25.08.2003 12:31:31 PM

III-2	Applicant and/or inventor	
III-2-1	This person is:	inventor only
III-2-4	Name (LAST, First)	KNIGHT, David, M
III-2-5	Address:	2430 WHITEHORSE ROAD BERWYN, PA 19312 United States of America
III-3	Applicant and/or inventor	
III-3-1	This person is:	inventor only
III-3-4	Name (LAST, First)	GHRAYEB, John
III-3-5	Address:	6 SUMMERHILL DRIVE DOWNINGTOWN, PA 19335 United States of America
III-4	Applicant and/or inventor	
III-4-1	This person is:	inventor only
III-4-4	Name (LAST, First)	SCALLON, Bernard, J
III-4-5	Address:	139 HEMLOCK DRIVE COLLEGEVILLE, PA 19426 United States of America
III-5	Applicant and/or inventor	
III-5-1	This person is:	inventor only
III-5-4	Name (LAST, First)	NESSPOR, Thomas, C
III-5-5	Address:	22 KING WAY LIMERICK, PA 19468 United States of America
III-6	Applicant and/or inventor	
III-6-1	This person is:	inventor only
III-6-4	Name (LAST, First)	KUTOLOSKI, Karen, A
III-6-5	Address:	1220 HUNTER LANE PERKIOMENVILLE, PA 18074 United States of America
IV-1	Agent or common representative; or address for correspondence The person identified below is hereby/has been appointed to act on behalf of the applicant(s) before the competent International Authorities as:	
IV-1-1	Name (LAST, First)	JOHNSON, Philip, S
IV-1-2	Address:	One Johnson & Johnson Plaza New Brunswick, NJ 08933 United States of America
IV-1-3	Telephone No.	732-524-2818
IV-1-4	Facsimile No.	732-524-2808
IV-1-5	e-mail	ktownse2@corus.jnj.com
IV-1-6	Agent's registration No.	27,200
IV-2	Additional agent(s)	
IV-2-1	Name(s)	additional agent(s) with same address as first named agent TOWNSEND, Guy, Kevin(34,033)

221
233

PCT REQUEST

CEN311PCT

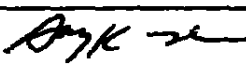
Draft (NOT for submission) - printed on 25.06.2003 12:31:31 PM

V	Designation of States	
V-1	Regional Patent (other kinds of protection or treatment, if any, are specified between parentheses after the designation(s) concerned)	AP: GH GM KE LS MW NE SD SL SZ TE UG ZM ZW and any other State which is a Contracting State of the Harare Protocol and of the PCT EA: AM AE BY KG KZ MD RU TJ TM and any other State which is a Contracting State of the Eurasian Patent Convention and of the PCT EP: AT BE BG CH&LI CY CZ DE DK EE ES FI FR GB GR HU IE IT LU MC NL PT RO SE SI SK TR and any other State which is a Contracting State of the European Patent Convention and of the PCT OA: BF BJ CF CG CI CM GA GN GQ GW ML MR NE SN TD TG and any other State which is a member State of OAPI and a Contracting State of the PCT
V-2	National Patent (other kinds of protection or treatment, if any, are specified between parentheses after the designation(s) concerned)	AE AG AL AM AT AU AZ BA BB BG BR BY BE CA CH&LI CN CO CR CU CZ DE DK DM DE EC EE ES FI GB GD GE GH GM HR HU ID IL IN IS JP KE KG KP KR KZ LC LK LR LS LT LU LV MA MD MG MK MN MW MX ME NI NO NE OM PH PL PT RO RU SC SD SE SG SK SL TJ TM TN TR TT TE UA UG UZ VC VN YU ZA ZM ZW
V-3	Precautionary Designation Statement In addition to the designations made under items V-1, V-2 and V-3, the applicant also makes under Rule 4.9(b) all designations which would be permitted under the PCT except any designation(s) of the State(s) indicated under item V-4 below. The applicant declares that those additional designations are subject to confirmation and that any designation which is not confirmed before the expiration of 18 months from the priority date is to be regarded as withdrawn by the applicant at the expiration of that time limit.	
V-4	Exclusion(s) from precautionary designations	NONE
VI-1	Priority claim of earlier national application	
VI-1-1	Filing date	28 June 2002 (28.06.2002)
VI-1-2	Number	60/392,431
VI-1-3	Country	US

PCT REQUEST

CEN311PCT

Draft (NOT for submission) - printed on 25.06.2003 12:31:31 PM

VI-2	Priority claim of earlier national application		
VI-2-1	Filing date	19 September 2002 (19.09.2002)	
VI-2-2	Number	60/412,144	
VI-2-3	Country	US	
VI-3	Priority document request	VI-1, VI-2	
	The receiving Office is requested to prepare and transmit to the International Bureau a certified copy of the earlier application(s) identified above as item(s):		
VII-1	International Searching Authority Chosen	United States Patent and Trademark Office (USPTO) (ISA/US)	
VIII	Declarations	Number of declarations	
VIII-1	Declaration as to the identity of the inventor	-	
VIII-2	Declaration as to the applicant's entitlement, as at the international filing date, to apply for and be granted a patent	-	
VIII-3	Declaration as to the applicant's entitlement, as at the international filing date, to claim the priority of the earlier application	-	
VIII-4	Declaration of inventorship (only for the purposes of the designation of the United States of America)	-	
VIII-5	Declaration as to non-prejudicial disclosures or exceptions to lack of novelty	-	
IX	Check list	number of sheets	electronic file(s) attached
IX-1	Request (including declaration sheets)	5	-
IX-2	Description	85	-
IX-3	Claims	7	-
IX-4	Abstract	1	EEANST00.TXT
IX-5	Drawings	0	-
IX-7	TOTAL	98	
	Accompanying items	paper document(s) attached	electronic file(s) attached
IX-6	Fee calculation sheet	✓	-
IX-17	PCT-EASY diskette	-	Diskette
IX-19	Figure of the drawings which should accompany the abstract		
IX-20	Language of filing of the international application	English	
X-1	Signature of applicant, agent or common representative		
X-1-1	Name (LAST, First)	TOWNSEND, Guy, Kevin	

232
234

233
235

PCT REQUEST

CEN311PCT

Draft (NOT for submission) - printed on 25.05.2003 12:31:31 PM

X-2	Signature of applicant, agent or common representative	
X-2-1	Name	CENTOCOR, INC.
X-2-2	Name of signatory	Guy Kevin Townsend
X-2-3	Capacity	Assistant Secretary

FOR RECEIVING OFFICE USE ONLY

10-1	Date of actual receipt of the purported international application	
10-2	Drawings:	
10-2-1	Received	
10-2-2	Not received	
10-3	Corrected date of actual receipt due to later but timely received papers or drawings completing the purported international application	
10-4	Date of timely receipt of the required corrections under PCT Article 11(2)	
10-5	International Searching Authority	ISA/US
10-6	Transmittal of search copy delayed until search fee is paid	

FOR INTERNATIONAL BUREAU USE ONLY

11-1	Date of receipt of the record copy by the International Bureau	
------	--	--

PCT (ANNEX - FEE CALCULATION SHEET)

CEN311PCT

Draft (NOT for submission) - printed on 19.06.2003 10:17:55 AM

(This sheet is not part of and does not count as a sheet of the international application)

0	For receiving Office use only			
0-1	International Application No.			
0-2	Date stamp of the receiving Office			
0-4	Form - PCT/ROH101 (Annex) PCT Fee Calculation Sheet Prepared using	PCT-EASY Version 2.92 (updated 01.04.2003)		
0-9	Applicant's or agent's file reference	CEN311PCT		
2	Applicant	CENTOCOR, INC.		
12	Calculation of prescribed fees	fee amount/multiplier	Total amounts (USD)	
12-1	Transmittal fee T	⇒	240	
12-2-1	Search fee S	⇒	700	
12-2-2	International search to be carried out by	US		
12-3	International fee			
	Basic fee (first 30 sheets) b1	476		
12-4	Remaining sheets	68		
12-5	Additional amount (X)	12		
12-6	Total additional amount b2	816		
12-7	b1 + b2 = B	1,292		
12-8	Designation fees			
	Number of designations contained in international application	94		
12-9	Number of designation fees payable (maximum 5)	5		
12-10	Amount of designation fee (X)	104		
12-11	Total designation fees D	520		
12-12	PCT-EASY fee reduction R	-148		
12-13	Total international fee (B+D-R) I	⇒	1,664	
12-14	Fee for priority document			
	Number of priority documents requested	1		
12-15	Fee per document (X)	20		
12-16	Total priority document fee P	⇒	20	
12-17	TOTAL FEES PAYABLE (T+S+D+P)	⇒	2,624	
12-18	Mode of payment	authorization to charge deposit account		
12-19	Deposit account instructions			
	The receiving Office:	United States Patent and Trademark Office (USPTO) (RO/US)		
12-20-1	Authorization to charge the total fees indicated above.	✓ <i>Am/1</i>		

224
236

235
237

PCT (ANNEX - FEE CALCULATION SHEET)

CEN311PCT

Draft (NOT for submission) - printed on 25.06.2003 12:31:31 PM

12-20-2	Authorization to charge any deficiency or credit any overpayment in the total fees indicated above.	✓ <i>By IC</i>
12-20-3	Authorization to charge the fee for priority document.	✓ <i>By IC</i>
12-21	Deposit account No.	10-0750-CEN311PCT
12-22	Date	25 June 2003 (25.06.2003)
12-23	Name and signature	TOWNSEND, Guy, Kevin <i>By K</i>

VALIDATION LOG AND REMARKS

13-2-2	Validation messages States	Green? More designations could be made. The following States have not been designated: PG, US. Please verify.
13-2-7	Validation messages Contents	Green? The international application contains no drawings. Please verify.
13-2-9	Validation messages Payment	Green? Please ensure that you have a valid deposit account with the receiving Office selected.

Linda 0637 236
238

1/2

PCT (ANNEX - FEE CALCULATION SHEET)

CEN311PCT

Draft (NOT for submission) - printed on 18.06.2003 10:17:55 AM

(This sheet is not part of and does not count as a sheet of the international application)

Cen-311
PCT

0	For receiving Office use only	
0-1	International Application No.	
0-2	Date stamp of the receiving Office	
0-4	Form - PCT/ROH101 (Annex)	
0-4-1	PCT Fee Calculation Sheet Prepared using	PCT-EASY Version 2.92 (updated 01.04.2003)
0-9	Applicant's or agent's file reference	CEN311PCT
2	Applicant	CENTOCOR, INC.
12	Calculation of prescribed fees	fee amount/multiplier Total amounts (USD)
12-1	Transmittal fee T	⇒ 240
12-2-1	Search fee S	⇒ 700
12-2-2	International search to be carried out by	US
12-3	International fee	
	Basic fee	
	(first 30 sheets) b1	476
12-4	Remaining sheets	68
12-6	Additional amount (X)	12
12-6	Total additional amount b2	816
12-7	b1 + b2 = B	1,292
12-8	Designation fees	
	Number of designations contained in international application	94
12-9	Number of designation fees payable (maximum 5)	5
12-10	Amount of designation fee (X)	104
12-11	Total designation fees D	520
12-12	PCT-EASY fee reduction R	-148
12-13	Total International fee (B+D-R) I	⇒ 1,664
12-14	Fee for priority document	
	Number of priority documents requested	1
12-15	Fee per document (X)	20
12-16	Total priority document fee P	⇒ 20
12-17	TOTAL FEES PAYABLE (T+S+P) ⇒	2,624
12-19	Mode of payment	authorization to charge deposit account
12-30	Deposit account instructions	
	The receiving Office:	United States Patent and Trademark Office (USPTO) (RO/US)
12-20-1	Authorization to charge the total fees indicated above.	✓ <i>Am 1</i>

(19) World Intellectual Property
Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
8 January 2004 (08.01.2004)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2004/002424 A2

- (31) International Patent Classification⁷: A61K (74) Agents: JOHNSON, Philip, S. et al.; One Johnson & Johnson Plaza, New Brunswick, NJ 08933 (US).
- (21) International Application Number: PCT/US2003/020495 (81) Designated States (*national*): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GH, GM, HN, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.
- (22) International Filing Date: 30 June 2003 (30.06.2003)
- (25) Filing Language: English
- (26) Publication Language: English
- (30) Priority Data:
60/392,431 28 June 2002 (28.06.2002) US
60/412,144 19 September 2002 (19.09.2002) US
- (84) Designated States (*regional*): ARIPO patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- (71) Applicant: CENTOCOR, INC. (US/US); 200 Great Valley Parkway, Chester County, Malvern, PA 19355 (US).
- (72) Inventors: HEAVNER, George, A.; 6 Oak Glen Drive, Malvern, PA 19355 (US). KNIGHT, David, M.; 2430 Whitehorse Road, Berwyn, PA 19312 (US). GHRAYER, John; 6 Summerhill Drive, Downingtown, PA 19335 (US). SCALLON, Bernard, J.; 139 Hemlock Drive, Collegeville, PA 19426 (US). NESSPOR, Thomas, C.; 22 King Way, Limerick, PA 19468 (US). KUTOLOSKI, Karen, A.; 1220 Hunter Lane, Parkersburg, PA 18074 (US).
- Published:
— without international search report and to be republished upon receipt of that report
- For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.

WO 2004/002424 A2

(34) Title: MAMMALIAN EPO MIMETIC CH1 DELETED MIMETIBODIES, COMPOSITIONS, METHODS AND USES

(57) Abstract: The present invention relates to at least one novel EPO human CH1-deleted mimetibody or specified portion or variant, including isolated nucleic acids that encode at least one CH1-deleted mimetibody or specified portion or variant, CH1-deleted mimetibody or specified portion or variants, vectors, host cells, transgenic animals or plants, and methods of making and using thereof, including therapeutic compositions, methods and devices.

folios 238 y 239.
-torjetas
a₂

240
240

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO
Radicación : 05007277 00000000 Folios: 239
Fecha (AMB): 2005-01-20 15:52:04
Trámite : 011 PCT-PATENT 379 FISE INCI 411 PRESENTM
Recomendación: PARA DISTRIBUCION DE MEJORES FOTOCOPIAS

REQUISITOS NECESARIOS PARA PRESENTACION Y AGILIZACION DEL TRAMITE

	USUARIO	RADICADOR
PATENTE DE INVENCION ✓		
MODELO DE UTILIDAD	()	(✓)
- Indicación de que se solicita la concesión de una patente.	()	(✓)
- Datos de identificación del solicitante o de la persona que se presenta la solicitud.	()	(✓)
- Descripción de la invención.	()	(✓)
- Dibujos de ser estos pertinentes. X	()	(✓)
- Comprobante de Pago de las tasas establecidas.		
COMPLETA ()	INCOMPLETA ()	()
DISEÑO INDUSTRIAL ()		
- Indicación de que se solicita el registro de Diseño Industrial	()	()
- Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud.	()	()
- Representación gráfica o fotográfica del Diseño Industrial o muestra del Material que incorpora el diseño.	()	()
- Comprobante de pago de las tasas establecidas	()	()
COMPLETA ()	INCOMPLETA ()	()
ESQUEMA DE TRAZADO ()		
- Indicación de que solicita el registro de un Esquema de trazado.	()	()
- Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta La solicitud.	()	()
- Representación gráfica del esquema de trazado	()	()
- Comprobante de pago de las tasas establecidas.	()	()
COMPLETA ()	INCOMPLETA ()	()

Firma Responsable: Claudia M Neva

Fecha:



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

Folio 241

2020
Bogotá, D.C.,

Doctor(a)
JIMENA ESCOBAR URIBE
Apoderado(a)

Oficio N° 12.463

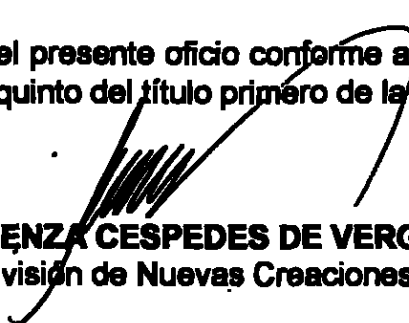
ASUNTO:	Radicación N°	05-7277
	Solicitud internacional	PCT/EP2003/020495
	Fecha inicio fase nacional	28/01/2005
	Trámite	011
	Evento	379
	Actuación	430
	Folios	001

Como resultado del examen de forma, realizado con fundamento en el artículo 38 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, artículo 27 del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT), regla 51 bis del Reglamento y Circular Única de la Superintendencia de Industria y Comercio, se le comunica que:

- Si fuere el caso, el solicitante debe adjuntar la traducción de los anexos del reporte de examen preliminar internacional (Art. 36.2.b) del tratado PCT).
- La solicitud no contiene la copia del documento en que consta la cesión del derecho a la patente del inventor al solicitante o a su causante. (Art. 26-k) Decisión 486/00.
- Para efectos de entendimiento, y posterior digitalización de la solicitud es importante que los documentos aportados se encuentren completos, por lo tanto se sugiere enviar un nuevo capítulo reivindicatorio, puesto que el presentado con la solicitud contiene defectos en la numeración.

En cumplimiento de lo dispuesto por el artículo 39 de la Decisión 486, se le requiere para que dentro del término de dos meses siguientes a la fecha de notificación del presente oficio, complete los requisitos anteriormente enunciados. En caso de no dar cumplimiento al presente requerimiento, la solicitud se considerará abandonada y perderá su prelación.

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Única N° 10 de 2001.


ALIX CARMENZA CESPEDES DE VERGEL
Jefe de la División de Nuevas Creaciones.

El anterior requerimiento fue notificado
fecha, 01 ABR 2005.

por fijación en lista de
Sede Centro: Carrera 13 No. 27-00 Pisos 2, 5, 7 y 10
Sede CAN: Tr. 40A No. 38-50 Conmutador: 3820840
Fax: 382 26 95. Línea 9800-810 185
Web: www.sic.gov.co e-mail: info@sic.gov.co
Bogotá D.C. - Colombia

202027