

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 12-057624- -00000-0000

Fecha: 2012-04-09 16:06:34 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 201

DELEGATURA PROPIEDAD INDUSTRIAL

División de Nuevas Creaciones

SOLICITUD PATENTE DE INVENCION

ENTRADA EN FASE NACIONAL

21. EXPEDIENTE No. _____

54. TITULO TRATAMIENTO DE CÁNCER DE ANTAGONISTAS NOTCH 1 RESISTENTES
UTILIZANDO ANTAGONISTAS NOTCH3

51. CLASIFICACION INTERNACIONAL _____

71. SOLICITANTE GENENTECH, INC.

DOMICILIO SAN FRANCISCO, CALIFORNIA, ESTADOS UNIDOS DE AMERICA

74. APODERADO JUAN PABLO CADENA SARMIENTO

22. SANTAFE DE BOGOTÀ, D.C. _____

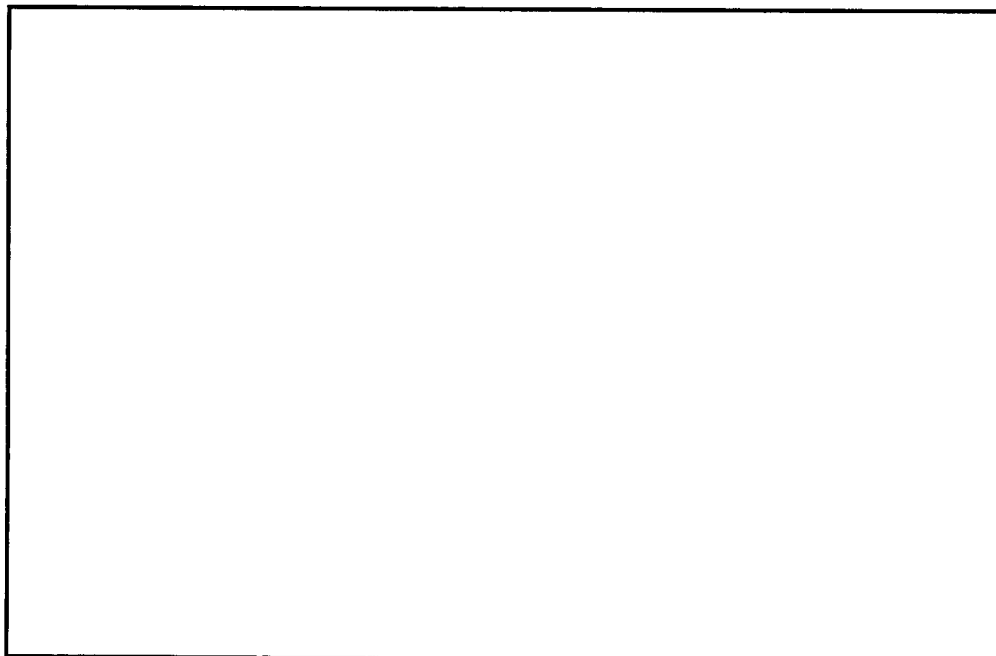
AS: 120.240		PETITORIO	
		SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO  No. 12-057624- -00000-0000 Fecha: 2012-04-09 16:06:34 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI Act. 411 PRESENTACION Folios: 201	
FORMULARIO ÚNICO DE PCT ENTRADA EN FASE NACIONAL			
1 SOLICITUD DE:			
☒ Patente de Invención.		☐ Patente de Modelo de Utilidad.	
☒ Capítulo I.		☐ Capítulo II.	
2 SOLICITANTE	Nombre: GENENTECH, INC. Dirección: 1 DNA Way, South San Francisco, CA 94080, Estados Unidos de América Nacionalidad o Domicilio: Estados Unidos de América Lugar de Constitución: Estados Unidos de América Teléfono: Fax: E-mail:		IDENTIFICACIÓN C.C. ☐ NIT ☐ C.E. ☐ Otro ☐ Cual _____ Número _____
3 REPRESENTANTE O APODERADO	Nombre: JUAN PABLO CADENA SARMIENTO Dirección: Calle 70 A #4-41, Bogotá, Colombia. Teléfono: 744-2200 Fax: 742-2200 E-mail:		IDENTIFICACIÓN C.C. ☒ NIT ☐ C.E. ☐ Otro ☐ Cual _____ Número <u>80.410.337</u> TP <u>57492</u>
En caso de haber presentado poder general para asuntos que se adelanten ante la Delegatura de Propiedad Industrial, sírvase indicar el número de radicación (del poder). _____			
4 INVENTOR (ES) (72)	Nombre: SIEBEL, Christian W. Dirección: c/o Genentech, Inc. 1 DNA Way MS 49 South San Francisco, California 94080, Estados Unidos de América. Nacionalidad o Domicilio: Estados Unidos de América		
5 PCT (86) Solicitud Internacional No. <u>PCT/US2010/050610</u> Fecha <u>29.09.2010</u> Publicación Internacional No <u>WO 2011/041336 A2</u> Fecha <u>07.04.2011</u>			
6 Título (54): <u>TRATAMIENTO DE CÁNCER DE ANTAGONISTAS NOTCH 1 RESISTENTES</u> <u>UTILIZANDO ANTAGONISTAS NOTCH3</u>			
7 Clasificación Internacional (51): _____			
8 Prioridad	(33) País de Origen	(32) Fecha	(31) Número de Solicitud
SI ☒ NO ☐	US	30.09.2009	61/247,298
9 Comprobante de pago No. <u>12-21965 - 12-21966 - 12-15344</u> Fecha <u>02 de abril de 2012</u>			
Instrucciones para el diligenciamiento del presente formulario, ver reverso de esta página.			

10

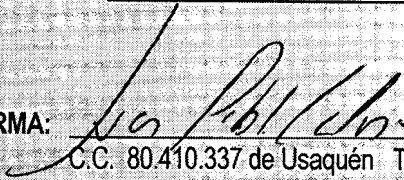
ANEXOS

- ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud. \$ 590.000
- ☒ Documento que acredita la existencia y representación legal de la persona jurídica peticionaria, en cuanto no esté inscrita en alguna Cámara de Comercio Colombiana.
- ☒ Poderes, si fuere el caso. Fotocopia autenticada.
- ☐ Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante. Fotocopia autenticada.
- ☐ Traducción de la solicitud internacional al español (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos).
- ☒ Copia del examen preliminar internacional efectuado por la Autoridad Internacional de Examen preliminar (IPEA).
- ☐ Traducción de examen preliminar internacional efectuado por la IPEA.
- ☐ De ser el caso, copia del contrato de acceso.
- ☐ De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.
- ☐ De ser el caso, certificado de depósito del material biológico.
- ☐ Arte final 12x12.
- ☐ De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.
- ☐ De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional bajo el Art. 34.
- ☒ Otros: Comprobante(s) de pago de la tasa por concepto de reivindicaciones adicionales \$ 324.000 (12*\$27.000).

11 FIGURA CARACTERÍSTICA:



12 Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: JUAN PABLO CADENA SARMIENTOFIRMA: 

C.C. 80.410.337 de Usaquén TP 57492 del C.S.J.

3
AS 120240

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO NIT : 800.176.089-2 - / -					
Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA	RECIBO DE CAJA			No. 12 - 0015257	
				Bogotá D.C., Febrero 15 de 2012 - 16:55:24	
RECIBIDO DE : BRIGARD & CASTRO S.A.				NI 860.047.372	
*** Soporte del Pago ***					
TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	446274533	15/02/2012	51.125.000.00
*** Conceptos Pagados ***					
CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr.UNDITARIO	Vr.CONCEPTO	
1	50005-01-01 SOLICITUDES	7 TRAMITES DE SOL. DE DISENOS INDUSTRIALES	590.000.00	590.000.00	
				\$590.000.00	
=====					
SON: **QUINIENTOS NOVENTA MIL PESOS MONEDA CORRIENTE**					
Responsable: _____					
Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____					
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO  No. 12-057624- -00000-0000 Fecha: 2012-04-09 16:06:34 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI Act. 411 PRESENTACION Folios: 201					
Sede Centro: Carrera 13 No. 27 - 00 Pisos 3,4,5 y 10 Bogotá, D.C.- Colombia Web: www.sic.gov.co e-mai: info@sic.gov.co Conmutador: (571) 5870000 Fax: (571) 5870284 Línea: 018000-910165 Call Center: (571) 6513240 Febrero 15 de 2012 - 16:55:40					

AS. 20240. 4

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
NIT : 800.176.089-2
- / -

Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA	RECIBO DE CAJA	No. 12 - 0021965
		Bogotá D.C., Marzo 02 de 2012 - 06:57:11

RECIBIDO DE : BRIGARD & CASTRO S.A. NI 860.047.372

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR. PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	446274566	01/03/2012	39.035.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CATEGORIA	CONCEPTO	Vr. UNIDITARIO	Vr. CONCEPTO
99 OTROS SERVICIOS ADMINISTRATIVOS	99 OTROS SERVICIOS ADMINISTRATIVOS	150.000.00	150.000.00
			\$150.000.00

SON: **CIENTO CINCUENTA MIL PESOS MONEDA CORRIENTE**

Responsable: _____
Recibido de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

No. 12-057624-00000-0000
Fecha: 2012-04-09 16:06:34 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 201

✓

- / -

REFERENCIAS

No. 12 - 0021966

Bogotá D.C., Marzo 02 de 2012 - 06:57:11

NI 860.047.372

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR. PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	446274566	01/03/2012	39.035.000,00

*** Conceptos Pagados ***

INDICADOR PRELIMINARIO	CONCEPTO	Vr.UNDITARIO	Vr.CONCEPTO
99 OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD INDUSTRIAL	99 OTROS SERVICIOS ADMINISTRATIVOS	150.000.00	150.000.00
			\$150.000.00

SON: ~~UN~~ CIENTO CINCUENTA MIL PESOS MONEDA CORRIENTE***

Responsable:

R. de Caja Aplicado al Expediente No.

No. 12 053624

No. 12-057624- -00000-0000

Fecha: 2012-04-09 16:06:34 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 201

Sede Centro: Carrera 13 No. 27 - 00 Pisos 3,4,5 y 10 Bogotá, D.C.- Colombia

Web: www.sic.gov.co e-mail: info@sic.gov.co Conmutador: (571) 5870000 Fax: (571) 5870284 Línea: 018000-910165 Call Center: (571) 6513240

2012 年 2 月 20 日 15:57:23

6
AS 120240

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO NIT : 800.176.089-2 - / -					
Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA	RECIBO DE CAJA			No. 12 - 0015344	
				Bogotá D.C., Febrero 15 de 2012 - 16:55:24	
RECIBIDO DE : BRIGARD & CASTRO S.A.				NI 860.047.372	
*** Soporte del Pago ***					
TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR. PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	446274533	15/02/2012	51.125.000.00
*** Conceptos Pagados ***					
CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr. UNDITARIO	Vr. CONCEPTO	
1	50005-01-09 OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD INDUSTRIAL	99 OTROS SERVCIOS ADMINISTRATIVOS	60.000.00	60.000.00	
				\$60.000.00	
=====					
SON: *** SESENTA MIL PESOS MONEDA CORRIENTE ***					
Responsable: _____					
Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____					
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO  No. 12-057624- -00000-0000 Fecha: 2012-04-09 16:06:34 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI Act. 411 PRESENTACION Folios: 201					
Sede Centro: Carrera 13 No. 27 - 00 Pisos 3,4,5 y 10 Bogotá, D.C.- Colombia Web: www.sic.gov.co e-mai: info@sic.gov.co Conmutador: (571) 5870000 Fax: (571) 5870284 Línea: 018000-910165 Call Center: (571) 6513240 Febrero 15 de 2012 - 16:55:43					

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau

(43) International Publication Date
7 April 2011 (07.04.2011)



(10) International Publication Number
WO 2011/041336 A2

(51) International Patent Classification:
C07K 16/28 (2006.01)

(21) International Application Number:

PCT/US2010/050610

(22) International Filing Date:

29 September 2010 (29.09.2010)

(25) Filing Language:

English

(26) Publication Language:

English

(30) Priority Data:

61/247,298 30 September 2009 (30.09.2009) US

(71) Applicant (for all designated States except AL, AT, BE, BG, CH, CN, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IN, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, SM, TR, US): GENENTECH, INC. [US/US]; 1 DNA Way, South San Francisco, California 94080-4990 (US).

(71) Applicant (for AL, AT, BE, BG, CH, CN, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IN, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, SM, TR only): F. HOFFMANN-LA ROCHE AG [CH/CH]; Grenzacherstrasse 124, CH-4070 Basel (CH).

(72) Inventor; and

(75) Inventor/Applicant (for US only): SIEBEL, Christian W. [US/US]; c/o Genentech, Inc., 1 DNA Way, MS 49, South San Francisco, California 94080 (US).

(74) Agents: PASQUALONE, Danielle, M. et al.; GENENTECH, INC., 1 DNA Way, MS-49, South San Francisco, California 94080-4990 (US).

(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of national protection available): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

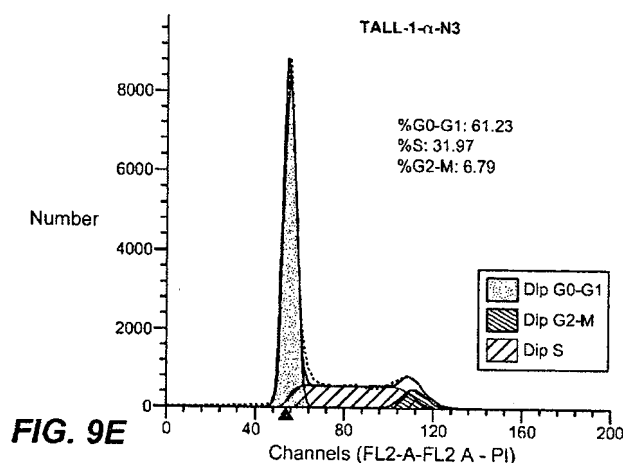
(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Published:

— without international search report and to be republished upon receipt of that report (Rule 48.2(g))

— with sequence listing part of description (Rule 5.2(a))

(54) Title: METHODS OF TREATING CANCER USING NOTCH ANTAGONISTS



(57) Abstract: The present invention relates to methods of treating cancer in general, and leukemia in particular, using Notch1 and Notch3 antagonists singly or in combination. Compositions and methods for the treatment and diagnosis of Notch-associated cancers are also provided.

Expediente de Patente No. P4371R1 WO
Presentado electrónicamente el 29 de setiembre del 2010

MÉTODOS PARA EL TRATAMIENTO DEL CÁNCER USANDO ANTAGONISTAS DE

NOTCH

SOLICITUDES RELACIONADAS

La presente solicitud reivindica el beneficio en virtud del Título 35 del Código de los Estados Unidos §119(e) del número de solicitud provisional 61/247298 presentada el 30 de septiembre del 2009, cuyos contenidos se incorporan aquí a modo de referencia.

CAMPO DE LA INVENCIÓN

La presente invención se refiere a métodos para el tratamiento del cáncer en general y leucemia en particular, utilizando los antagonistas de Notch1 y Notch3 solos o en combinación. También se proporcionan composiciones y métodos para el tratamiento y diagnóstico de tipos de cáncer asociados a Notch.

LISTADO DE SECUENCIAS

La presente solicitud contiene un Listado de Secuencias que se ha presentado en formato ASCII a través de EFS-Web y por medio de la presente se incorpora a modo de referencia en

su totalidad. Esta copia de ASCII, creada el 3 de septiembre del 2010, se titula P4371.txt y tiene 65,600 bytes de extensión.

ANTECEDENTES

La familia de receptores Notch es una clase de receptores transmembrana conservados evolutivamente que transmiten las señales que afectan al desarrollo en organismos tan diversos como los erizos de mar y los seres humanos. Los receptores Notch y sus ligandos Delta y Serrate (conocido como Jagged en mamíferos) son proteínas transmembrana con grandes dominios extracelulares que contienen repeticiones similares al factor de crecimiento epidérmico (EGF). El número de parálogos de Notch difiere entre las especies. Por ejemplo, existen cuatro receptores Notch en mamíferos (Notch1-Notch4), dos en *Caenorhabditis elegans* (LIN-12 y GLP-1) y uno en *Drosophila melanogaster* (Notch). Los receptores Notch son procesados proteolíticamente durante el transporte a la superficie celular mediante una proteasa similar a furina en un sitio S1, que es N-terminal para el dominio transmembrana, produciendo una subunidad extracelular de Notch (ECN) y una subunidad transmembrana de Notch (NTM). Estas dos subunidades permanecen asociadas de forma no covalente y constituyen el receptor maduro heterodimérico de la superficie celular.

Las subunidades ECN de Notch1 contienen 36 repeticiones similares al EGF en N-terminal seguido por tres módulos de Repeticiones Notch/Lin 12 (LNR) repetidos en tándem que preceden el sitio S1. El ECN de Notch3 tiene una estructura similar, pero con 34 repeticiones similares al EGF. Cada módulo LNR contiene tres enlaces de disulfuro y un grupo de residuos ácidos y polares conservados pronosticados para coordinar un ión de calcio. Dentro de la región de repetición del EGF yacen los sitios de unión para los ligandos activadores. Los NMT de Notch1 y Notch3 comprenden una región extracelular (que alberga el sitio de escisión S2), un segmento transmembrana (que alberga el sitio de escisión S3), y una gran región intracelular (ICN o ICD) que incluye un dominio de RAM, repetición de anquirina, un dominio de transactivación y un dominio PEST carboxiterminal. La asociación estable de las subunidades ECN y NMT depende de un dominio de heterodimerización (HD) que comprende el extremo carboxi-terminal de ECN (denominado HD-N) y el extremo amino-terminal extracelular de NTM (denominado HD-C). Antes de la activación inducida por ligando, el Notch se mantiene en una conformación de reposo por una región reguladora negativa (NRR), que comprende las tres LNR y el dominio HD.

La unión de un ligando de Notch a la subunidad ECN inicia dos escisiones proteolíticas sucesivas que se producen a través de la proteólisis intramembrana regulada. La primera escisión por una metaloproteasa (ADAM17) en el sitio S2 hace

11

que la subunidad transmembrana de Notch sea susceptible a la segunda escisión en el sitio S3 cerca a la cara interna de la membrana plasmática. La escisión del sitio S3, que se cataliza por un complejo multiproteico que contiene presenilina y nicastrin y promoviendo la actividad de la γ -secretasa, libera la porción intracelular de la subunidad transmembrana de Notch, lo que le permite translocar al núcleo y activar la transcripción de genes objetivo. (Para revisión de la escisión proteolítica de Notch, véase, por ejemplo, Sisodia y col., *Nat. Rev. Neurosci.* 3:281-290, 2002.)

Se han identificado en humanos cinco ligandos de Notch de las clases similares a Jagged y Delta (Jagged1 (también llamado Serrate1), Jagged2 (también llamado Serrate2), similar a Delta 1 (también llamado DLL1), similar a Delta 3 (también llamado DLL3), y similar a Delta 4 (también denominado DLL4)). Cada uno de los ligandos es una proteína transmembrana de un solo paso con un motivo esencial Delta N-terminal, Serrate LAG-2 (DSL) conservado para la unión de Notch. Una serie de módulos C-terminal similares al EGF para el motivo de DSL precede al segmento que abarca la membrana. A diferencia de los receptores Notch, los ligandos tienen colas citoplásmicas cortas de 70-215 aminoácidos en el C-terminal. Además, se han informado otros tipos de ligandos (por ejemplo, DNER, NB3, y F3/Contactina). (Para revisión de los ligandos de Notch y la activación mediada por ligando de Notch, véase, por ejemplo, D'Souza y col., *Oncogene* 27:5148-5167, 2008.)

Las funciones de la vía Notch durante diversos procesos de desarrollo y fisiológicos, incluyendo los que afectan a la neurogénesis en las moscas y vertebrados. En general, la señalización Notch está involucrada en la inhibición lateral, las decisiones de linaje, y el establecimiento de fronteras entre los grupos de células. (Véase, por ejemplo, Bray, *Mol. Cell. Biol.* 7:678-679, 2006.) Se ha demostrado que una variedad de enfermedades humanas, incluyendo el cáncer y los trastornos neurodegenerativos resultan de mutaciones en los genes que codifican los receptores Notch o sus ligandos. (Véase, por ejemplo, Nam y col., *Curr. Opin. Chem. Biol.* 6:501-509, 2002.)

La función de Notch1 como una oncoproteína se demostró en la leucemia que involucra progenitores de células T. Esta función fue reconocida por primera vez en humanos en leucemia linfoblástica aguda (T-ALL). (Véase, por ejemplo, Aster y col., *Annu. Rev. Pathol. Mech. Dis.* 3:587-613, 2008.) La T-ALL es una leucemia agresiva que afecta preferentemente a niños y adolescentes. Una translocación cromosómica recurrente t (7;9) (q34; q34.3), la cual crea una variante truncada, constitutivamente activa de Notch1 humano, fue identificada en un subconjunto de T-ALLs. Además de la translocación (7; 9) frecuentes mutaciones de ganancia de función en el Notch1 humano fueron descubiertas más tarde en más del 50% de todos los T-ALL en humanos. (Véase Weng y col., *Science*, 306:269-271, 2004.) Esas mutaciones se producen en el dominio

extracelular de HD y el dominio intracelular PEST. Otros estudios demostraron que la expresión de ICN de Notch1 basada en retrovirales en células de la médula ósea causó T-ALL en modelos de ratones que recibieron las células de la médula ósea trasplantadas. (Véase Aster y col., *Mol. Cell Biol.* 20:7505-7515, 2000.)

De acuerdo con esta función para Notch1 en la leucemia que involucra progenitores de células T, la señalización Notch1 ha demostrado ser esencial para el desarrollo de células T en modelos de ratón, y las señales mediadas por Notch1 promueven el desarrollo de células T a expensas del desarrollo de células B. (Véase, por ejemplo, Wilson y col., *J. Exp. Med.* 194:1003-1012, 2001.) Se han descrito otras funciones para Notch1 en la leucemia. Se ha informado la activación de mutaciones en el dominio PEST de Notch1 a baja frecuencia en la leucemia mieloide aguda (AML) en humanos y en las leucemias de conmutación de linaje, lo que sugiere que la activación de las mutaciones en Notch1 puede ocurrir en una célula madre leucémica que precede el compromiso de linaje mieloide y de células T. (Ver Palomero y col., *Leukemia* 20:1963-1966, 2006.)

Antes del descubrimiento de las frecuentes mutaciones de ganancia de función de Notch1 en la T-ALL, se observó que la expresión forzada de ICN de Notch3 en el timo causó leucemia/linfoma de células T en ratones transgénicos. (Véase

Bellavia y col., *EMBO J.* 19:3337-3348, 2000.) El ARNm de Notch3 también se informó como expresado en las treinta muestras de pacientes con T-ALL analizadas, mientras que no se detectó en linfocitos T normales de sangre periférica y leucemias a células no-T. (Véase Bellavia y col., *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 99:3788-3793, 2002.)

El Notch1 y Notch3 también se asocian con una variedad de otros tipos de cáncer. Por ejemplo, en tumores sólidos, el aumento de la expresión de Notch1 se ha observado en los tipos de cáncer humano del cuello uterino, colon, pulmón, páncreas, piel y cerebro (véase, por ejemplo, Leong y col., *Blood* 107:2223-2233, 2006), y la expresión elevada de Notch1 se correlaciona con un resultado desalentador en el cáncer de mama (véase, por ejemplo, Parr et al, *Int. J. Mol. Med.* 14:779-786, 2004; Reedijk et al, *Cancer Res.* 65:8530.-8537, 2005). Una translocación cromosómica (15; 19) ha sido identificada en un subconjunto de tumores de pulmón de células no pequeñas, y se considera que la translocación eleva la transcripción de Notch3. En el cáncer de ovario, se determinó que la amplificación del gen Notch3 se presenta en aproximadamente el 19% de los tumores, y se encontró sobreexpresión de Notch3 en más de la mitad de los carcinomas serosos de ovario. La sobre-expresión de Notch1 y Notch3 activados en ratones transgénicos induce tumores de mama en ratones, y la sobreexpresión de Notch3 es suficiente para inducir la formación de tumores del plexo coroideo en un

15

modelo de ratón, lo que sugiere una función para Notch3 en el desarrollo de ciertos tumores cerebrales. (Para revisión de Notch3 en cáncer, véase Shih y col. *Cancer Res.* 67:1879-1882, 2007.)

Se han descrito ciertos anticuerpos antagonistas anti-Notch1 que tienen eficacia terapéutica. (Véase Publicación de Solicitud de Patente de Estados Unidos N° US 2009/0081238 A1, expresamente incorporada como referencia en su totalidad en este documento.) Por ejemplo, estos anticuerpos se unen a la región reguladora negativa (NRR) de Notch1, bloquea la señalización Notch1, interrumpe la angiogénesis y la vascularización, e inhibe el crecimiento tumoral en modelos de xenoinjerto de ratón de carcinoma de pulmón de célula no pequeña y adenocarcinoma de colon. Ciertos anticuerpos descritos en ella se unen a LNR-A y LNR-B (la primera y segunda de las tres repeticiones LIN12/Notch) y HD-C de la NRR de Notch1. También se han descrito otros anticuerpos anti-Notch1 que se unen a la región de repetición del EGF de Notch1 y bloquea la actividad Notch1, tal vez bloqueando la unión del ligando. (Véase la Publicación Internacional N° WO 2008/091641).

También se han descrito ciertos anticuerpos antagonistas anti-Notch3. (Véase Publicación de la Solicitud de Patente de Estados Unidos N° US 2008/0226621 A1, expresamente incorporada como referencia en su totalidad en este documento.) Tales

anticuerpos se unen a la región reguladora negativa (NRR) de Notch3 y bloquean la señalización Notch3. Ciertos anticuerpos descritos en ella se unen a LNR-A (la primera de las tres repeticiones de LIN12/Notch) y HD-C (denominado alternativamente como el segundo dominio de dimerización en US 2008/0226621 A1) de la NRR de Notch3. También se han descrito otros anticuerpos anti-Notch3 que se unen a la región de repetición similar al EGF de Notch3 y bloquean la actividad de Notch3, quizás bloqueando la unión del ligando. (Véase Li y col., *J. Biol. Chem.* 283:8046-8054, 2008.)

Se han propuesto los inhibidores de la gamma-secretasa (GSI), que son pan-inhibidores de Notch que inhiben múltiples receptores Notch, para el tratamiento de enfermedades relacionadas con Notch, y en efecto se han utilizado en ensayos clínicos para el tratamiento de la T-ALL. (Véase Roy et al, *Curr. Opin. Genet. Dev.* 17:52-59, 2007; Deangelo et al, *J. Clin. Oncol. 2006 ASCO Annual Meeting Proceedings Part I* 24:6586, 2006.) Sin embargo, los GSI causan pérdida de peso y la metaplasia intestinal de células caliciformes, lo que refleja la función que cumple el Notch en la determinación del destino de la célula mediante el mantenimiento de la proliferación de células progenitoras de criptas intestinales y la prohibición de diferenciación a un destino de la célula secretora. (Vease van Es y col., *Nature* 435:959-963, 2005). Aunque estos efectos secundarios de la inhibición de pan-Notch pueden ser manejados en un entorno clínico, los inhibidores

que se dirigen a los receptores Notch individuales, y por lo tanto, minimizan o reducen estos efectos secundarios, pueden ser ventajosos.

Existe una necesidad en la técnica para otros métodos terapéuticos de tratamiento del cáncer focalizando los receptores Notch. La invención descrita aquí satisface las necesidades anteriormente descritas y proporciona otros beneficios.

RESUMEN

La presente invención se refiere al tratamiento de cáncer utilizando antagonistas de Notch, solos o en combinación. La presente invención se refiere específicamente, en parte, a la caracterización de las diferentes clases de T-ALL. Una clase de T-ALL es sensible al tratamiento con GSI y también es sensible al tratamiento con un antagonista de Notch1 específica. En cambio, otra clase de T-ALL es sensible al tratamiento con GSI, pero insensible (es decir, resistente) al tratamiento con un antagonista de Notch1 específica. Como se muestra en este documento, esta última clase de T-ALL es parcialmente sensible al tratamiento con un antagonista de Notch3 específica, y aún más sensible a una combinación de un antagonista de Notch1 específica y un antagonista de Notch3 específica. Estos resultados sugieren una función tanto para el Notch1 como para el Notch3 en las leucemias, en particular las leucemias progenitoras de células T, tales como T-ALL.

En un aspecto, se proporciona un método para el tratamiento de un cáncer sensible al GSI que no responde a un antagonista de Notch1 específica, el método que comprende administrar a un paciente que tiene cáncer, una cantidad eficaz de un antagonista de Notch3 específica. En ciertas realizaciones, el cáncer es leucemia de células T. En ciertas realizaciones, la leucemia de células T es una leucemia linfoblástica. En ciertas realizaciones, la leucemia de células T es T-ALL. En ciertas realizaciones, el antagonista de Notch3 específica es un anticuerpo antagonista anti-Notch3. En ciertas realizaciones, el anticuerpo antagonista anti-Notch3 es un anticuerpo anti-Notch3 NRR. En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-Notch3 NRR se une a los dominios LNR-A y HD-C de Notch3 NRR. En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-Notch3 NRR comprende las CDR de la región variable de la cadena pesada y ligera de anticuerpo 256A-4 o 256A-8. En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-Notch3 NRR es una forma humanizada del anticuerpo 256A-4 o 256A-8. En ciertas realizaciones, el anticuerpo antagonista anti-Notch3 es un anticuerpo anti-Notch3 que se une a una o más repeticiones similares a EGF de Notch3.

En una realización adicional, el método comprende además la administración de una cantidad eficaz de un antagonista de Notch1 específica. En ciertas realizaciones, el antagonista de Notch1 específico que se administra es un anticuerpo antagonista anti-Notch1. En ciertas realizaciones, el

19

anticuerpo antagonista anti-Notch1 es un anticuerpo anti-Notch1 NRR. En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-Notch1 NRR se une a los dominios de LNR-A, LNR-B, y HD-C del Notch1 NRR. En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-Notch1 NRR se selecciona del Anticuerpo A, A-1, A-2 y A-3. En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-Notch1 NRR comprende las CDR de la región variable de la cadena pesada y ligera de un anticuerpo seleccionado a partir del anticuerpo A, A-1, A-2 y A-3. En ciertas realizaciones, el anticuerpo antagonista anti-Notch1 es un anticuerpo anti-Notch1 que se une a una o más repeticiones similares a EGF de Notch1.

En un aspecto adicional de la invención, se proporciona un anticuerpo que se une a Notch3 ICD activado. En ciertas realizaciones, el anticuerpo se une al péptido de SEQ ID NO: 4. En ciertas realizaciones, el anticuerpo es policlonal. En ciertas realizaciones, el anticuerpo es monoclonal.

En un aspecto adicional de la invención, se proporciona un método de identificación de un cáncer que es adecuado para el tratamiento con un antagonista de Notch3, el método que comprende poner en contacto una muestra del cáncer con el anticuerpo de la reivindicación 15, y que determina si los niveles significativamente elevados de Notch3 activado están presentes en la muestra, en donde la presencia de niveles significativamente elevados de Notch3 activado indica que el cáncer es adecuado para el tratamiento con un antagonista de

Notch3. En ciertas realizaciones, el cáncer es sensible al GSI.

Los aspectos anteriores y otros y la realizaciones de la invención se proporcionan en este documento.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

La Figura 1A-1D muestra una alineación de Notch1 humana (SEQ ID NO: 1) y Notch1 en ratones (SEQ ID NO: 2), con motivos y otras características indicadas.

La Figura 2 muestra la secuencia de Notch3 humana (SEC ID NO: 3). La región de repetición del EGF se extiende desde el residuo de aminoácidos 43 a 1383; los módulos LNR se extienden desde el residuo de aminoácidos 1384 a 1503, con LNR-A que se extiende desde los residuos de aminoácidos 1384-1422; y el dominio de dimerización se extiende desde el residuo de aminoácidos 1504 a 1640, con HD-C que se extiende desde los residuos de aminoácidos 1572-1640.

La Figura 3A-3D muestra que la línea celular de T-ALL, P-12 Ichikawa, es resistente tanto al GSI (DAPT) como anti-NRR1 (α -N1).

La Figura 4A-4D muestra que la línea celular de T-ALL, HPB-ALL, es sensible tanto al GSI (DAPT) como anti NRR1-(α -N1), como se evidencia por la acumulación de células en G0/G1

y la reducción de células en S/G2/M, en relación con las células de control.

La Figura 5A-5D muestra que la línea celular de T-ALL, TALL-1, es sensible al GSI pero resistente a anti-NRR1 (α -N1).

La Figura 6 muestra que las mediciones del tamaño de las células reflejan las tres clases de T-ALL identificadas en las figuras 3-5.

La Figura 7 muestra que la tinción con Anexina V (marcador de apoptosis) y 7-AAD (marcador de muerte celular) reflejan las tres clases de T-ALL identificadas en las figuras 3-5.

La Figura 8, panel izquierdo, muestra que la tinción con Ki-67 (marcador de proliferación celular), refleja las tres clases de T-ALL identificadas en las Figuras 3-5. Los picos desplazados a la izquierda indican menor tinción con Ki-67 y la disminución de la proliferación en relación a los picos desplazados a la derecha. La Figura 8, panel derecho, muestra que la disminución de la tinción con Ki-67 (es decir, disminución de la proliferación) se correlaciona inversamente con el número de células doblemente negativas de Anexina V/7-AAD (es decir, no-apoptóticas).

La Figura 9A-9F muestra que la línea celular de TALL-1 es parcialmente sensible a anti-NRR3 (α -N3) y sensible al tratamiento con anti-NRR1 (α -N1) y anti-NRR3.

La Figura 10A-10F muestra que la línea celular de T-ALL, CCRF-CEM, es resistente tanto al GSI, anti-NRR1 (α -N1) y anti-NRR3 (α -N3).

La Figura 11A-11F muestra que la línea celular de HPB-ALL es sensible a anti-NRR1 (α -N1), pero no anti-NRR3 (α -N3).

La figura 12 muestra un inmunoblot utilizando un anticuerpo que reconoce el Notch3 ICD activado (ICD α -Notch3), que detecta el Notch3 ICD activado en la fracción nuclear de las células MDA-MB-468 estimuladas por Jag 1.

La Figura 13 muestra que la línea celular de TALL-1 expresa altos niveles de Notch3 activado (panel inferior), escindida, que puede ser bloqueada por DAPT pero no anti-NRR1 (α -N1), mientras que la línea celular de HPB-ALL expresa altos niveles de Notch1 activado, escindido que puede ser bloqueada por DAPT y anti-NRR1 (α -N1).

La Figura 14 muestra un gráfico de los resultados de los experimentos descritos en la Figura 9A-9F.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LAS REALIZACIONES

I. DEFINICIONES

Para efectos de la interpretación de esta especificación, se aplicarán las siguientes definiciones y cuando sea conveniente, los términos utilizados en singular también incluirán el plural y viceversa. En caso de que cualquier definición que se establece a continuación entre en conflicto con cualquier documento incorporado aquí como referencia, la definición que se establece a continuación deberá prevalecer.

El término "Notch", como se usa aquí, se refiere, a menos que se indique lo contrario o según el contexto, a cualquier polipéptido Notch nativo o variante (ya sea nativo o sintético) (Notch1-4). El término "secuencia nativa" abarca específicamente formas truncadas que ocurren naturalmente (por ejemplo, una secuencia de dominio extracelular o una secuencia de subunidad de transmembrana), formas variantes que ocurren naturalmente (por ejemplo, formas empalmados alternativamente) y las variantes alélicas que ocurren naturalmente. El término "Notch tipo natural" generalmente se refiere a un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos de la proteína Notch no mutado que ocurre naturalmente. El término "secuencia Notch de tipo natural" generalmente se refiere a una secuencia de aminoácidos que se encuentra en un Notch no mutado que ocurre naturalmente.

El término "Notch1," como se usa aquí, se refiere, a menos que se indique lo contrario o según específicamente o contextualmente, a cualquier polipéptido Notch1 nativo o variante (ya sea nativo o sintético). El término "secuencia nativa" abarca específicamente las formas truncadas que ocurren naturalmente (por ejemplo, una secuencia de dominio extracelular o una subunidad de secuencia transmembrana), formas variantes que ocurren naturalmente (por ejemplo, formas empalmadas alternativamente) y las variantes alélicas que ocurren naturalmente. El término "Notch1 de tipo natural" generalmente se refiere a un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos de la proteína Notch1 no mutado que ocurre naturalmente. El término "secuencia Notch1 de tipo natural" se refiere generalmente a una secuencia de aminoácidos que se encuentra en un Notch1 no mutado que ocurre naturalmente.

La expresión "ligando de Notch1," como se utiliza aquí, hace referencia, a menos que se indique lo contrario específicamente o contextualmente, a cualquier polipéptido de ligando de Notch1 nativo o variante (ya sea nativo o sintético) (por ejemplo, Jagged1, Jagged2, similar a Delta 1, similar a Delta 3, y/o similar a Delta 4). El término "secuencia nativa" abarca específicamente formas truncadas que ocurren naturalmente (por ejemplo, una secuencia de dominio extracelular o una secuencia de subunidad transmembrana), formas variantes que ocurren naturalmente (por ejemplo, formas

empalmadas alternativamente) y variantes alélicas que ocurren naturalmente. El término "ligando de Notch1 tipo natural" generalmente se refiere a un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos de un ligando de Notch1, no mutado que ocurre naturalmente. El término "secuencia de ligando de Notch1 de tipo natural" se refiere generalmente a una secuencia de aminoácidos que se encuentra en un ligando de Notch1 no mutado que ocurre naturalmente.

El término " Notch1 NRR," como se usa aquí, se refiere, a menos que se indique lo contrario específicamente o contextualmente, a cualquier región polipeptídica nativa o variante (ya sea nativa o sintética) de Notch1 que consta de los 3 módulos LNR y las secuencias de aminoácidos que se extienden desde el carboxi-terminal de los módulos LNR al dominio transmembrana, tales secuencias que incluyen el dominio de HD (HD-N y HD-C). Los Notch1 NRR ejemplares consisten en la región de aproximadamente el aminoácido 1446 a aproximadamente el aminoácido 1735 de la secuencia de aminoácidos de Notch1 humana (SEQ ID NO: 1, Figura 1), y la región de aproximadamente el aminoácido 1446 a aproximadamente el aminoácido 1725 de la secuencia de aminoácidos de Notch1 en ratones (SEQ ID NO: 2, Figura 1). El término " Notch1 NRR de secuencia nativa" abarca específicamente las formas truncadas que ocurren naturalmente, las formas variantes que ocurren naturalmente (por ejemplo, formas empalmadas alternativamente) y, las variantes alélicas que ocurren naturalmente de un

Notch1 NRR. El término "Notch1 NRR de tipo natural" generalmente se refiere a un Notch1 NRR no mutado que ocurre naturalmente. En algunas realizaciones, un Notch1 NRR está contenido en un Notch1, tal como, por ejemplo, un Notch1 procesado en los sitios S1, S2 y/o S3, o un Notch1 sin procesar. En algunas realizaciones, un Notch1 NRR contiene dos o más fragmentos enlazados de manera no covalente de una secuencia de aminoácidos Notch1 NRR, por ejemplo, un fragmento que contiene los aminoácidos 1446 a 1664 de la SEQ ID NO: 1 enlazados de manera no covalente a un fragmento que contiene aminoácidos 1665 a 1735 de la SEQ ID NO: 1. En otra realización, un fragmento que contiene los aminoácidos 1446 a 1654 de la SEQ ID NO: 2 está enlazado de manera no-covalente a un fragmento que contiene los aminoácidos 1655 a 1725 de la SEQ ID NO: 2.

El término "aumento de señalización Notch1," como se usa aquí, se refiere a un aumento en la señalización Notch1 que es significativamente superior al nivel de señalización Notch1 observado en un control bajo condiciones principalmente idénticas. En ciertas realizaciones, el aumento de señalización Notch1 está por lo menos dos veces, tres veces, cuatro veces, cinco veces, o diez veces por encima del nivel observado en el control.

El término "disminución de señalización Notch1," como se usa aquí, se refiere a una disminución en la señalización

Notch1 que está significativamente por debajo del nivel de señalización Notch1 observado en un control bajo condiciones principalmente idénticas. En ciertas realizaciones, la disminución en la señalización Notch1 está por lo menos dos veces, tres veces, cuatro veces, cinco veces o diez veces por debajo del nivel observado en el control.

En ciertas realizaciones, la señalización Notch1 (es decir, aumento o disminución de señalización Notch1) se evaluó mediante un ensayo informante adecuado, por ejemplo, como se describe en el Ejemplo 5 de la Publicación de Solicitud de Patente de los Estados Unidos N° US 2009/ 0081238 A1. En ciertas realizaciones, la señalización Notch1 se evalúa mediante un ensayo de actividad in vitro, tal como el ensayo de diferenciación de mioblastos C2C12 o el ensayo de germinación celular HUVEC, como se describe en los Ejemplos 5 y 7, respectivamente, de US 2009/0081238 A1. En ciertas realizaciones, la señalización Notch1 se evalúa utilizando un modelo de xenoinjerto in vivo, tal como los modelos Calu6 y HM7 descritos en el Ejemplo 8 de US 2009/0081238 A1.

Los términos "mutación activadora de Notch1" y "mutación que activa la señalización Notch1" se refieren a una inserción de uno o más aminoácidos, una delección de uno o más aminoácidos, o una sustitución de uno o más aminoácidos en relación con una secuencia de aminoácidos de Notch1 de tipo natural que resulta en un aumento de señalización Notch1 en

comparación con la señalización Notch1 de la correspondiente secuencia de aminoácidos de Notch1 de tipo natural, o a una inserción de uno o más nucleótidos, una delección de uno o más nucleótidos, una translocación de uno o más nucleótidos, o una sustitución de uno o más nucleótidos en relación con una secuencia de ácido nucleico de Notch1 tipo natural que resulta en aumento de señalización Notch1 en una célula que contiene la secuencia de ácido nucleico mutante en comparación con la señalización Notch1 en una célula que contiene la correspondiente secuencia de ácido nucleico de Notch1 de tipo natural. La señalización Notch1 de un receptor Notch1 que contiene una mutación activadora puede ser dependiente del ligando o independiente del ligando.

El término "anticuerpo anti-Notch1" o "un anticuerpo que se une a Notch1" se refiere a un anticuerpo que es capaz de unir Notch1 con afinidad suficiente de manera que el anticuerpo sea útil como un agente de diagnóstico y/o terapéutico en el Notch1 objetivo. De preferencia, el grado de unión de un anticuerpo anti-Notch1 a una proteína no-Notch no relacionada es inferior a aproximadamente 10% de la unión del anticuerpo a Notch1 como se mide, por ejemplo, mediante un radioinmunoensayo (RIA). En ciertas realizaciones, un anticuerpo que se une a Notch1 tiene una constante de disociación (K_d) de $\leq 1 \mu\text{M}$, $\leq 0.5 \mu\text{M}$, $\leq 100 \text{ nM}$, $\leq 50 \text{ nM}$, $\leq 10 \text{ nM}$, $\leq 5 \text{ nM}$, $\leq 1 \text{ nM}$, $\leq 0.5 \text{ nM}$, o $\leq 0.1 \text{ nM}$. En ciertas realizaciones, un anticuerpo anti-Notch1 se une a un epítipo

de Notch1 que se conserva entre Notch1 de diferentes especies, por ejemplo, roedores (ratones, ratas) y primates.

El término "anticuerpo anti-Notch1 NRR" o "un anticuerpo que se une a Notch1 NRR" se refiere a un anticuerpo que es capaz de unir Notch1 NRR con afinidad suficiente de manera que el anticuerpo sea útil como un agente de diagnóstico y/o terapéutico en el Notch1 objetivo. De preferencia, el grado de unión de un anticuerpo anti-Notch1 NRR a una proteína no-Notch no relacionada es inferior a aproximadamente 10% de la unión del anticuerpo Notch1 NRR como se mide, por ejemplo, mediante un radioinmunoensayo (RIA). En ciertas realizaciones, un anticuerpo que se une a Notch1 NRR tiene una constante de disociación (K_d) de $\leq 1 \mu\text{M}$, $\leq 0.5 \mu\text{M}$, $\leq 100 \text{ nM}$, $\leq 50 \text{ nM}$, $\leq 10 \text{ nM}$, $\leq 5 \text{ nM}$, $\leq 1 \text{ nM}$, $\leq 0.5 \text{ nM}$, o $\leq 0.1 \text{ nM}$. En ciertas realizaciones, un anticuerpo anti-Notch1 NRR se une a un epítipo de Notch que se conserva entre el Notch de diferentes especies, por ejemplo, roedores (ratones, ratas) y primates.

El término "antagonista de Notch1 específica" se refiere a un agente que efectúa la disminución de la señalización Notch1, como se definió anteriormente, y no afecta significativamente a la señalización por otro receptor de Notch (Notch2, 3, 4 o en los mamíferos).

Un "anticuerpo antagonista anti-Notch1" es un anticuerpo anti-Notch1 (incluyendo un anticuerpo anti-Notch1 NRR) que

efectúa la disminución de la señalización Notch1, como se definió anteriormente.

La referencia a "Anticuerpo A, A-1, A-2 y A-3", solo o en cualquier combinación, significa que las regiones variables de la cadena pesada y ligera de los anticuerpos fago y reformateados designaron el anticuerpo A, A-1, A-2 y A-3 en la Publicación de Solicitud de Patente de Estados Unidos N° US 2009/0081238 A1, a menos que se indique lo contrario.

El término "Notch3," como se usa aquí, se refiere, a menos que se indique lo contrario específicamente o contextualmente, a cualquier polipéptido Notch3 nativo o variante (ya sea nativo o sintético). El término "secuencia nativa" abarca específicamente formas truncadas que ocurren naturalmente (por ejemplo, una secuencia del dominio extracelular o una subunidad de secuencia transmembrana), formas variantes que ocurren naturalmente (por ejemplo, formas empalmadas alternativamente) y, las variantes alélicas que ocurren naturalmente. El término "Notch3 de tipo natural" generalmente se refiere a un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos de una proteína Notch3 no mutado que ocurre naturalmente. El término "secuencia de Notch3 de tipo natural" generalmente se refiere a una secuencia de aminoácidos que se encuentra en un Notch3 no mutado que ocurre naturalmente.

El término "ligando de Notch3," como se usa aquí, se refiere, a menos que se indique lo contrario, específicamente o contextualmente, a cualquier polipéptido de ligando de Notch3 nativo o variante (ya sea nativo o sintético) (por ejemplo, Jagged1, Jagged2, similar a Delta 1, similar a Delta 3, y/o similar a Delta 4). El término "secuencia nativa" abarca específicamente formas truncadas que ocurren naturalmente (por ejemplo, una secuencia del dominio extracelular o una subunidad de secuencia transmembrana), formas variantes que ocurren naturalmente (por ejemplo, formas empalmadas alternativamente) y las variantes alélicas que ocurren naturalmente. El término "ligando de Notch3 de tipo natural" generalmente se refiere a un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos de ligando de Notch3 no mutado que ocurre naturalmente. El término "secuencia de ligando de Notch3 de tipo natural" se refiere generalmente a una secuencia de aminoácidos que se encuentra en un ligando de Notch3 no mutado que ocurre naturalmente.

El término "Notch3 ICD activado" se refiere al producto de escisión Notch3 que resulta de la escisión en el sitio S3 y que es capaz de translocar al núcleo. En ciertas realizaciones, el Notch3 ICD activado consta de aminoácidos 1662-2321 de Notch3 humana (SEQ ID NO: 3).

El término "Notch3 NRR," como se usa aquí, se refiere, a menos que se indique lo contrario específicamente o contextualmente, a cualquier región polipeptídica nativa o

variante (ya sea nativa o sintética) de Notch3 que consta de los 3 módulos LNR y las secuencias de aminoácidos que se extienden desde el carboxi-terminal de los módulos LNR al dominio transmembrana, tales secuencias que incluyen el dominio de HD (HD-N y HD-C). Las Notch3 NRR ejemplares constan de la región de aproximadamente el aminoácido 1384 a aproximadamente el aminoácido 1640 de la secuencia de aminoácidos de Notch3 humana (SEQ ID NO: 3, Figura 2). El término "Notch3 NRR de secuencia nativa" abarca específicamente formas truncadas que ocurren naturalmente, formas variantes que ocurren naturalmente (por ejemplo, las formas empalmadas alternativamente) y, las variantes alélicas de un Notch3 NRR que ocurren naturalmente. El término "Notch3 NRR de tipo natural" generalmente se refiere a un Notch3 NRR no mutado que ocurre naturalmente. En algunas realizaciones, un Notch3 NRR está contenido en un Notch3, tal como, por ejemplo, un Notch3 procesado en los sitios S1, S2 y/o S3, o un Notch3 no procesado. En algunas realizaciones, un Notch3 NRR contiene dos o más fragmentos enlazados de manera no covalente de una secuencia de aminoácidos del Notch3 NRR, por ejemplo, un fragmento que contiene los aminoácidos 1384 a 1571 de Notch3 humana (SEQ ID NO: 3) enlazados de manera no covalente a un fragmento que contiene los aminoácidos 1572 a 1640 al Notch3 humano (SEQ ID NO: 3).

El término "aumento de la señalización Notch3," como se usa aquí se refiere a un aumento en la señalización Notch3 que

es significativamente superior al nivel de señalización Notch3 observado en un control bajo condiciones principalmente idénticas. En ciertas realizaciones, el aumento en la señalización Notch3 está por lo menos dos veces, tres veces, cuatro veces, cinco veces, o diez veces por encima del nivel observado en el control.

El término "disminución de señalización Notch3," como se usa aquí se refiere a una disminución en la señalización Notch3 que está significativamente por debajo del nivel de señalización Notch3 observado en un control bajo condiciones principalmente idénticas. En ciertas realizaciones, la disminución en la señalización Notch3 está por lo menos dos veces, tres veces, cuatro veces, cinco veces o diez veces por debajo del nivel observado en el control.

En ciertas realizaciones, la señalización Notch3 (es decir, aumento o disminución de la señalización Notch3) se evalúa mediante un ensayo informante adecuado, como se describe en el Ejemplo 5 de la Publicación de Solicitud de Patente de Estados Unidos N° US 2008/0226621 A1. En ciertas realizaciones, la señalización Notch3 se evalúa mediante un ensayo de actividad in vitro, tales como la apoptosis, migración celular, invasión, y los ensayos de morfología descritos en el Ejemplo 7 de la Publicación de Solicitud de Patente de Estados Unidos N° US 2008/0226621 A1. En ciertas realizaciones, la señalización Notch3 se evalúa utilizando un

modelo de xenoinjerto in vivo, tal como los descritos en el Ejemplo 11 de US 2008/0226621 A1.

El término "anticuerpo anti-Notch3" o "un anticuerpo que se une a Notch3" se refiere a un anticuerpo que es capaz de unir el Notch3 con afinidad suficiente de manera que el anticuerpo sea útil como un agente de diagnóstico y/o terapéutico en el Notch3 objetivo. De preferencia, el grado de unión de un anticuerpo anti-Notch3 a una proteína no-Notch no relacionada es inferior a aproximadamente 10% de la unión del anticuerpo a Notch3 como se mide, por ejemplo, mediante un radioinmunoensayo (RIA). En ciertas realizaciones, un anticuerpo que se une al Notch3 NRR tiene una constante de disociación (K_d) de $\leq 1 \mu\text{M}$, $\leq 0.5 \mu\text{M}$, $\leq 100 \text{ nM}$, $\leq 50 \text{ nM}$, $\leq 10 \text{ nM}$, $\leq 5 \text{ nM}$, $\leq 1 \text{ nM}$, $\leq 0.5 \text{ nM}$, o $\leq 0.1 \text{ nM}$. En ciertas realizaciones, un anticuerpo anti-Notch3 se une a un epítipo de Notch3 que se conserva entre Notch3 de diferentes especies, por ejemplo, roedores (ratones, ratas) y primates.

El término "anti-anticuerpo Notch3 NRR" o "un anticuerpo que se une al Notch3 NRR" se refiere a un anticuerpo que es capaz de unir el Notch3 NRR con afinidad suficiente de manera que el anticuerpo sea útil como un agente de diagnóstico y/o terapéutico en Notch3 objetivo. De preferencia, el grado de unión de un anticuerpo anti-Notch3 NRR a una proteína no-Notch no relacionada es inferior a aproximadamente 10% de la unión del anticuerpo al Notch3 NRR como se mide, por ejemplo,

mediante un radioinmunoensayo (RIA). En ciertas realizaciones, un anticuerpo que se une al Notch3 NRR tiene una constante de disociación (K_d) de $\leq 1 \mu\text{M}$, $\leq 0.5 \mu\text{M}$, $\leq 100 \text{ nM}$, $\leq 50 \text{ nM}$, $\leq 10 \text{ nM}$, $\leq 5 \text{ nM}$, $\leq 1 \text{ nM}$, $\leq 0.5 \text{ nM}$, o $\leq 0.1 \text{ nM}$. En ciertas realizaciones, un anticuerpo anti-Notch3 NRR se une a un epítipo de Notch3 que se conserva entre Notch3 de diferentes especies, por ejemplo, roedores (ratones, ratas) y primates.

El término "antagonista de Notch3 específica" se refiere a un agente que efectúa la disminución de señalización Notch3, como se define anteriormente, y no afecta significativamente a la señalización por otro receptor Notch (Notch1, 2, 4 o en los mamíferos).

Un "anticuerpo antagonista anti-Notch3" es un anticuerpo anti-Notch3 (incluyendo un anticuerpo anti-Notch3 NRR) que efectúa la disminución de señalización Notch3, tal como se definió anteriormente.

La referencia a "anticuerpo 256A-4 y 256A-8," solos o en combinación, significa que los anticuerpos monoclonales de ratón designados 256A-4 y 256A-8 en la Publicación de la Solicitud de la Patente N° 2008/0226621 A1.

El término "antagonista" se refiere a un agente que inhibe significativamente (ya sea parcial o completamente) la actividad biológica de una molécula objetivo.

Un "anticuerpo que se une al Notch3 ICD activado" se refiere a un anticuerpo que se une al Notch3 ICD activado de manera que el anticuerpo sea útil para distinguir el Notch3 ICD activado del Notch3 que comprende una NTM intacta.

El término "anticuerpo" se utiliza aquí en su sentido más amplio y cubre específicamente anticuerpos monoclonales, anticuerpos policlonales, anticuerpos multiespecíficos (por ejemplo, anticuerpos biespecíficos) formados a partir de al menos dos anticuerpos intactos, y fragmentos de anticuerpos siempre que exhiban la actividad biológica deseada.

Un anticuerpo "aislado" es aquel que ha sido identificado y separado y/o recuperado de un componente de su entorno natural. Los componentes contaminantes de su entorno natural son materiales que interferirían con la investigación, diagnóstico o usos terapéuticos para los anticuerpos, y pueden incluir enzimas, hormonas y otros solutos proteicos o no proteicos. En algunas realizaciones, un anticuerpo se purifica (1) hasta más de 95% en peso del anticuerpo según se determina mediante, por ejemplo, el método de Lowry, y en algunas realizaciones, a más del 99% en peso, (2) a un grado suficiente para obtener al menos 15 residuos de N-terminal o la secuencia de aminoácidos interna mediante el uso de, por ejemplo, un secuenciador de taza giratoria, o (3) a homogeneidad mediante SDS-PAGE bajo condiciones reductoras o

no reductoras, utilizando, por ejemplo, tinción con plata o azul, de Coomassie. El anticuerpo aislado incluye el anticuerpo *in situ* dentro de las células recombinantes ya que por lo menos un componente del entorno natural del anticuerpo no estará presente. Sin embargo, comúnmente el anticuerpo aislado será preparado por al menos una etapa de purificación.

Los "Anticuerpos nativos" son generalmente glucoproteínas heterotetraméricas de aproximadamente 150,000 daltones, compuestos de dos cadenas ligeras idénticas (L) y dos cadenas pesadas idénticas (H). Cada cadena ligera está enlazada a una cadena pesada por un enlace disulfuro covalente, mientras que el número de enlaces disulfuro varía entre las cadenas pesadas de diferentes isotipos de inmunoglobulinas. Cada cadena pesada y ligera también tiene puentes disulfuro intracatenarios regularmente espaciados. Cada cadena pesada tiene en un extremo un dominio variable (V_H), seguido por un número de dominios constantes. Cada cadena ligera tiene un dominio variable en un extremo (V_L) y un dominio constante en su otro extremo, el dominio constante de la cadena ligera está alineado con el primer dominio constante de la cadena pesada, y el dominio variable de cadena ligera está alineado con el dominio variable de la cadena pesada. Se cree que los residuos particulares de aminoácidos forman una interface entre los dominios variables de la cadena ligera y la cadena pesada.

La "región variable" o el "dominio variable" de un anticuerpo se refiere a los dominios amino-terminales de la cadena pesada o ligera del anticuerpo. El dominio variable de la cadena pesada puede ser denominado como "VH". El dominio variable de la cadena ligera puede ser denominado como "VL". Estos dominios son generalmente las partes más variables de un anticuerpo y contienen los sitios de unión al antígeno.

El término "variable" se refiere al hecho de que ciertas porciones de los dominios variables difieren ampliamente en secuencia entre anticuerpos y se utilizan en la unión y la especificidad de cada anticuerpo particular para su antígeno en particular. Sin embargo, la variabilidad no se distribuye uniformemente a lo largo de los dominios variables de anticuerpos. Se concentra en tres segmentos llamados regiones hipervariables (HVRs), tanto en los dominios variables de la cadena ligera y la cadena pesada. Las porciones más altamente conservadas de los dominios variables se denominan las regiones marco (FR). Los dominios variables de las cadenas pesadas y ligeras nativas comprenden cada uno cuatro regiones FR, adoptando en gran medida una configuración de lámina beta, conectadas por tres HVR, que forman bucles que conectan, y en algunos casos forman parte de, la estructura de lámina beta. Las HVR en cada cadena se mantienen unidas en estrecha proximidad con las regiones FR y, con las HVR de la otra cadena, contribuyen a la formación del sitio de unión al antígeno de los anticuerpos (véase Kabat y col., Sequences of

Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, National Institute of Health, Bethesda, MD (1991)). Los dominios constantes no están involucrados directamente en la unión de un anticuerpo a un antígeno, pero muestran diversas funciones efectoras, tales como la participación del anticuerpo en la toxicidad celular dependiente del anticuerpo.

Las "cadenas ligeras" de anticuerpos (inmunoglobulinas) de cualquier especie de vertebrados pueden ser asignadas a uno de dos tipos claramente distintos, llamados kappa (κ) y lambda (λ), en base a las secuencias de aminoácidos de sus dominios constantes.

Dependiendo de las secuencias de aminoácidos de los dominios constantes de sus cadenas pesadas, los anticuerpos (inmunoglobulinas) pueden ser asignados a diferentes clases. Existen cinco clases principales de inmunoglobulinas: IgA, IgD, IgE, IgG e IgM, y varios de ellos pueden ser divididos en subclases (isotipos), por ejemplo, IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁, y IgA₂. Los dominios constantes de cadena pesada que corresponden a las diferentes clases de inmunoglobulinas son llamados α , δ , ϵ , γ , y μ , respectivamente. Las estructuras de subunidad y configuraciones tridimensionales de diferentes clases de inmunoglobulinas son bien conocidas y se describen generalmente en, por ejemplo, Abbas y col. Cellular and Mol. Immunology, 4th ed. (W.B. Saunders, Co., 2000). Un anticuerpo puede ser parte de una molécula de fusión más grande, formado

por asociación covalente o no covalente del anticuerpo con una o más de otras proteínas o péptidos.

Los términos "anticuerpo de longitud completa", "anticuerpo intacto" y "anticuerpo completo" se utilizan aquí de manera intercambiable para referirse a un anticuerpo en su forma principalmente intacta, no a fragmentos de anticuerpos como se definen a continuación. Los términos se refieren particularmente a un anticuerpo con cadenas pesadas que contienen una región Fc.

Un "anticuerpo desnudo" para los fines del presente documento es un anticuerpo que no está conjugado con una porción citotóxica o marcado radioactivo.

"Los fragmentos de anticuerpo" comprenden una porción de un anticuerpo intacto, que comprende preferentemente la región de unión al antígeno del mismo. Ejemplos de fragmentos de anticuerpos incluyen Fab, Fab', F(ab')₂, y los fragmentos Fv; diacuerpos; anticuerpos lineales; moléculas de anticuerpo de una sola cadena; y anticuerpos multiespecíficos formados a partir de fragmentos de anticuerpos.

La digestión de la papaína de anticuerpos produce dos fragmentos idénticos de unión al antígeno, llamados fragmentos "Fab", cada uno con un solo sitio de unión al antígeno, y un fragmento "Fc" residual, cuyo nombre refleja su capacidad de

cristalizar con facilidad. El tratamiento con pepsina produce un fragmento $F(ab')_2$ que tiene dos sitios que combinan al antígeno y todavía es capaz de formar enlace cruzado al antígeno.

"Fv" es el fragmento de anticuerpo mínimo que contiene un sitio de unión completa al antígeno. En una realización, una especie de Fv de dos cadenas se compone de un dímero de dominio variable de una cadena pesada y una ligera en estrecha asociación, no covalente. En la especie de Fv de una sola cadena (scFv), un dominio variable de cadena pesada y una cadena ligera puede estar covalentemente enlazado por un péptido enlazador flexible de manera que las cadenas ligera y pesada puedan asociarse a un análogo de estructura "dimérica" a la de una especie Fv de dos cadenas. Es en esta configuración que las tres HVR de cada dominio variable interactúan para definir un sitio de unión al antígeno en la superficie del dímero VH-VL. Colectivamente, las seis HVR confieren especificidad de unión al antígeno al anticuerpo. Sin embargo, incluso un solo dominio variable (o la mitad de un Fv que comprende sólo tres HVR específicos para un antígeno) tiene la capacidad de reconocer y unirse al antígeno, aunque en una menor afinidad que el sitio de unión completo.

El fragmento Fab contiene los dominios variables de la cadena pesada y ligera y también contiene el dominio constante

de la cadena ligera y el primer dominio constante (CH1) de la cadena pesada. Los fragmentos Fab' difieren de los fragmentos Fab mediante la adición de algunos residuos en el carboxi terminal del dominio CH1 de la cadena pesada incluyendo una o más cisteínas de la región bisagra del anticuerpo. Fab'-SH es la designación en el presente documento para Fab' en la que el (los) residuo(s) de cisteína de los dominios constantes soporta(n) un grupo tiol libre. Los fragmentos de anticuerpos F(ab')₂ fueron producidos originalmente como pares de fragmentos Fab' que tienen cisteínas bisagra entre ellos. También son conocidos otros acoplamientos químicos de fragmentos de anticuerpos.

Los fragmentos de anticuerpos de "Fv de una sola cadena " o "scFv" comprenden los dominios VH y VL del anticuerpo, en donde estos dominios están presentes en una sola cadena polipeptídica. Generalmente, cuanto más scFv polipéptido comprende un enlazador polipéptido entre los dominios VH y VL que permite que el scFv forme la estructura deseada para la unión al antígeno. Para una revisión de scFv, véase, por ejemplo, Pluckthün, en The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenberg and Moore eds., (Springer-Verlag, New York, 1994), pp. 269-315.

El término "diacuerpos" se refiere a fragmentos de anticuerpo con dos sitios de unión al antígeno, cuyos fragmentos comprenden un dominio variable de cadena pesada

43

(VH) conectado a un dominio variable de cadena ligera (VL) en la misma cadena polipeptídica (VH-VL). Mediante el uso de un enlazador que es demasiado corto para permitir el emparejamiento entre los dos dominios en la misma cadena, los dominios se ven forzados a emparejarse con los dominios complementarios de la otra cadena y crear dos sitios de unión al antígeno. Los diacuerpos pueden ser bivalentes o biespecíficos. Los diacuerpos se describen más detalladamente en, por ejemplo, EP 404.097, WO 1993/01161; Hudson et al, Nat. Med. 9:129-134 (2003), y Hollinger et al, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 6444-6448 (1993). Los triacuerpos y tetracuerpos se describen también en Hudson y col., Nat. Med. 9:129-134 (2003).

El término "anticuerpo monoclonal" como se usa aquí se refiere a un anticuerpo obtenido de una población de anticuerpos principalmente homogéneos, es decir, los anticuerpos individuales que comprenden la población son idénticos excepto por posibles mutaciones, por ejemplo, las mutaciones que ocurren naturalmente, que pueden estar presentes en cantidades menores. Así, el modificador "monoclonal" indica el carácter del anticuerpo ya que no es una mezcla de anticuerpos discretos. En ciertas realizaciones, dicho anticuerpo monoclonal incluye generalmente un anticuerpo que comprende una secuencia de polipéptidos que se unen a un objetivo, en el que la secuencia polipeptídica de unión del objetivo se obtiene mediante un proceso que incluye la

selección de una secuencia polipeptídica de unión de un solo objetivo de una pluralidad de secuencias polipeptídicas. Por ejemplo, el proceso de selección puede ser la selección de un clon único de una pluralidad de clones, tales como un conjunto de clones de hibridoma, clones de fagos, o clones de ADN recombinante. Se debe entender que una secuencia de unión objetivo seleccionada puede ser aún más alterada, por ejemplo, para mejorar la afinidad por el objetivo, para humanizar la secuencia de unión objetivo, para mejorar su producción en cultivo celular, para reducir su inmunogenicidad *in vivo*, para crear un anticuerpo multiespecífico, etc, y que un anticuerpo que comprende la secuencia de unión objetivo alterada también es un anticuerpo monoclonal de esta invención. En cambio con las preparaciones de anticuerpos policlonales, que generalmente incluyen diferentes anticuerpos dirigidos contra diferentes determinantes (epítomos), cada anticuerpo monoclonal de una preparación de anticuerpo monoclonal está dirigido contra un único determinante sobre un antígeno. Además de su especificidad, las preparaciones de anticuerpos monoclonales son ventajosas porque generalmente no están contaminadas por otras inmunoglobulinas.

El modificador "monoclonal" indica el carácter del anticuerpo ya que se obtiene a partir de una población principalmente homogénea de anticuerpos, y no debe interpretarse como requerimiento de la producción del anticuerpo por algún método particular. Por ejemplo, los

45

anticuerpos monoclonales a ser usadas de acuerdo con la presente invención pueden ser realizados por una variedad de técnicas, incluyendo, por ejemplo, el método de hibridoma (por ejemplo, Kohler and Milstein, *Nature*, 256:495-97 (1975); Hongo y col., *Hybridoma*, 14 (3): 253-260 (1995), Harlow y col., *Antibodies: A Laboratory Manual*, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2nd ed. 1988); Hammerling y col., in: *Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas* 563-681 (Elsevier, N.Y., 1981)), métodos recombinantes de ADN (véase, por ejemplo Patente de los Estados Unidos No. 4,816,567), tecnologías de visualización de fagos (véase, por ejemplo, Clackson y col., *Nature*, 352: 624-628 (1991); Marks y col., *J. Mol. Biol.* 222: 581-597 (1992); Sidhu y col., *J. Mol. Biol.* 338(2): 299-310 (2004); Lee y col., *J. Mol. Biol.* 340(5): 1073-1093 (2004); Fellouse, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101(34): 12467-12472 (2004); y Lee y col., *J. Immunol. Methods* 284(1-2): 119-132(2004), y tecnologías para la producción de anticuerpos humanos o similares a humanos en animales que tienen la totalidad o parte de las ubicaciones de inmunoglobulina humana o de los genes que codifican las secuencias de inmunoglobulina humana (ver, por ejemplo, WO 1998/24893; WO 1996/34096; WO 1996/33735; WO 1991/10741; Jakobovits y col., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90: 2551 (1993); Jakobovits y col., *Nature* 362: 255-258 (1993); Bruggemann y col., *Year in Immunol.* 7:33 (1993); Patente de los Estados Unidos Nos. 5,545,807; 5,545,806; 5,569,825; 5,625,126; 5,633,425; and 5,661,016; Marks y col., *Bio/Technology* 10: 779-783 (1992); Lonberg y

col., *Nature* 368: 856-859 (1994); Morrison, *Nature* 368: 812-813 (1994); Fishwild y col., *Nature Biotechnol.* 14: 845-851 (1996); Neuberger, *Nature Biotechnol.* 14: 826 (1996); and Lonberg and Huszar, *Intern. Rev. Immunol.* 13: 65-93 (1995).

Los anticuerpos monoclonales del presente documento incluyen anticuerpos específicamente "quiméricos" en los que una porción de la cadena pesada y/o ligera es idéntica con u homóloga a las secuencias correspondientes en los anticuerpos derivados de una especie particular o pertenecientes a una clase o subclase de anticuerpo particular, mientras que el resto de la(s) cadena(s) es idéntico u homóloga a las secuencias correspondientes en los anticuerpos derivados de otras especies o pertenecientes a otra clase o subclase de anticuerpos, así como fragmentos de tales anticuerpos, siempre y cuando muestren la actividad biológica deseada (véase, por ejemplo, Patente de los Estados Unidos No. 4,816,567; y Morrison y col., *Proc Natl Acad Sci USA* 81:6851-6855 (1984)). Los anticuerpos quiméricos incluyen anticuerpos PRIMATIZED® donde la región de unión al antígeno del anticuerpo se deriva de un anticuerpo producido por, por ejemplo, inmunización de monos macacos con el antígeno de interés.

Las formas "humanizadas" de anticuerpos no-humanos (por ejemplo, murina) son anticuerpos quiméricos que contienen una secuencia mínima derivada de inmunoglobulina no humana. En una realización, un anticuerpo humanizado es una inmunoglobulina humana (anticuerpo receptor) en la que los residuos de una HVR

del receptor son sustituidos por los residuos de una HVR de una especie no humana (anticuerpo donante) como ratón, rata, conejo, o primate no humano que tienen la especificidad, afinidad y/o capacidad deseada. En algunos casos, los residuos de FR de la inmunoglobulina humana son sustituidos por los correspondientes residuos no humanos. Además, los anticuerpos humanizados pueden comprender residuos que no se encuentran en el anticuerpo receptor o en el anticuerpo donante. Estas modificaciones se pueden hacer para refinar aún más el rendimiento del anticuerpo. En general, un anticuerpo humanizado comprenderá principalmente la totalidad de al menos uno, y generalmente dos, dominios variables, en el que todos o principalmente todos los bucles hipervariables corresponden a las de una inmunoglobulina no humana, y la totalidad o principalmente la totalidad de las FR son las de una secuencia de inmunoglobulina humana. El anticuerpo humanizado opcionalmente también comprenderá al menos una porción de una región constante de inmunoglobulina (Fc), generalmente la de una inmunoglobulina humana. Para más detalles, véase, por ejemplo, Jones y col., *Nature* 321:522-525 (1986); Riechmann y col., *Nature* 332:323-329 (1988); y Presta, *Curr. Op. Struct. Biol.* 2:593-596 (1992). También véase, por ejemplo, Vaswani y Hamilton, *Ann. Allergy, Asthma & Immunol.* 1:105-115 (1998); Harris, *Biochem. Soc. Transactions* 23:1035-1038 (1995); Hurle y Gross, *Curr. Op. Biotech.* 5:428-433 (1994); y las Patentes de los Estados Unidos Nos. 6,982,321 y 7,087,409.

Un "anticuerpo humano" es aquel que posee una secuencia de aminoácidos que corresponde a la de un anticuerpo producido por un ser humano y/o se ha realizado usando cualquiera de las técnicas para producir anticuerpos humanos tal como se describen aquí. Esta definición de un anticuerpo humano excluye específicamente un anticuerpo humanizado que comprende residuos de unión al antígeno no humanos. Los anticuerpos humanos pueden ser producidos mediante diversas técnicas conocidas en la técnica, incluidas las bibliotecas de fagos de visualización. Hoogenboom y Winter, *J. Mol. Biol.*, 227:381 (1991); Marks y col., *J. Mol. Biol.*, 222:581 (1991). Los métodos descritos en Cole y col., *Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy*, Alan R. Liss, p. 77 (1985); Boerner y col., *J. Immunol.*, 147(1):86-95 (1991) también están disponibles para la preparación de anticuerpos monoclonales humanos. Véase también van Dijk y van de Winkel, *Curr. Opin. Pharmacol.*, 5: 368-74 (2001). Los anticuerpos humanos pueden ser preparados mediante la administración del antígeno a un animal transgénico que ha sido modificado para producir tales anticuerpos en respuesta a la exposición antigénica, pero cuya ubicación endógena han sido desactivada, por ejemplo, xenoratonos inmunizados (véase, por ejemplo, las patentes de los Estados Unidos Nos. 6,075,181 y 6,150,584 con respecto a la tecnología XENOMOUSE™). Véase también, por ejemplo, Li y col., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 103:3557-3562 (2006) con respecto a los anticuerpos humanos generados a través de la tecnología de hibridoma de células B humanas.

El término "región hipervariable", "HVR", o "HV", cuando se usa aquí se refiere a las regiones de un dominio variable de anticuerpo que son hipervariables en la secuencia y/o forman bucles estructuralmente definidos. Generalmente, los anticuerpos comprenden seis HVR; tres en VH (H1, H2, H3), y tres en VL (L1, L2, L3). En anticuerpos nativos, H3 y L3 muestran la mayor diversidad de las seis HVR, y H3 en particular, se cree que cumple una función única en el otorgamiento de especificidad fina a los anticuerpos. Véase, por ejemplo, Xu y col., *Immunity* 13:37-45 (2000); Johnson y Wu, en *Methods in Molecular Biology* 248:1-25 (Lo, ed., Human Press, Totowa, NJ, 2003). Es más, los anticuerpos de camélidos que ocurren naturalmente que constan de una cadena pesada sólo son funcionales y estables en ausencia de la cadena ligera. Véase, por ejemplo, Hamers-Casterman y col., *Nature* 363:446-448 (1993); Sheriff y col., *Nature Struct. Biol.* 3:733-736 (1996).

Un número de delineaciones de HVR está en uso y son abarcadas en este documento. Las Regiones de Determinación de complementariedad (CDR) de Kabat se basan en la variabilidad de la secuencia y son los más comúnmente utilizadas (Kabat y col., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991)). Chothia se refiere más bien a la ubicación de los bucles estructurales (Chothia y Lesk *J. Mol.*

Biol. 196:901-917 (1987)). Las AbM HVR representan un compromiso entre las HVR de Kabat y los bucles estructurales de Chothia, y son utilizadas por el software de modelamiento de anticuerpos AbM de Oxford Molecular. Las HVR de "contacto" se basan en un análisis de las complejas estructuras cristalinas disponibles. Los residuos de cada una de estas HVR se indican a continuación.

Bucle Kabat		AbM	Chothia	Contacto
-----		---	-----	-----
L1	L24-L34	L24-L34	L26-L32	L30-L36
L2	L50-L56	L50-L56	L50-L52	L46-L55
L3	L89-L97	L89-L97	L91-L96	L89-L96
H1	H31-H35B	H26-H35B	H26-H32	H30-H35B
(Numeración Kabat)				
H1	H31-H35	H26-H35	H26-H32	H30-H35
(Numeración Chothia)				
H2	H50-H65	H50-H58	H53-H55	H47-H58
H3	H95-H102	H95-H102	H96-H101	H93-H101

Las HVR pueden comprender "HVRs extendidas" de la siguiente manera: 24-36 o 24-34 (L1), 46-56 o 50-56 (L2) y 89-97 o 89-96 (L3) en el VL y 26-35 (H1), 50-65 o 49-65 (H2) y 93-102, 94-102, o 95-102 (H3) en VH. Los residuos de dominio variable se numeran de acuerdo con Kabat y col., antes mencionado, para cada una de estas definiciones.

57

Los residuos "marco" o "FR" son aquellos residuos del dominio variable distintos de los residuos de HVR como se define aquí.

El término "numeración de residuo del dominio variable como en Kabat" o "numeración de posición de aminoácidos como en Kabat," y variaciones de los mismos, se refiere al sistema de numeración utilizado para dominios variables de cadena pesada o dominios variables de cadena ligera de la recopilación de anticuerpos en Kabat y col., antes mencionado. El uso de este sistema de numeración, la secuencia de aminoácidos lineal real puede contener menos o más aminoácidos que corresponden a un acortamiento de, o la inserción en, un FR o una HVR del dominio variable. Por ejemplo, un dominio variable de cadena pesada puede incluir un inserto único de aminoácidos (residuo 52a de acuerdo con Kabat) después del residuo 52 de H2 y los residuos insertados (por ejemplo, residuos 82a, 82b, y 82c, etc. según Kabat) después del residuo 82 FR de la cadena pesada. La numeración de Kabat de los residuos puede determinarse para un anticuerpo dado mediante la alineación en las regiones de homología de la secuencia del anticuerpo con una secuencia numerada "estándar" de Kabat.

El sistema de numeración de Kabat se utiliza generalmente para referirse a un residuo en el dominio variable (aproximadamente residuos 1-107 de la cadena ligera y residuos

52

1-113 de la cadena pesada) (por ejemplo, Kabat y col., antes mencionado). El "sistema de numeración de la Unión Europea" o "índice UE" se utiliza generalmente para referirse a un residuo en una región constante de la cadena pesada de inmunoglobulina (por ejemplo, el índice UE informado en Kabat y col., antes mencionado). El "índice UE como en Kabat" se refiere a la numeración de residuo del anticuerpo humano IgG1 UE. A menos que se indique lo contrario en este documento, las referencias a números de residuos en el dominio variable de anticuerpos significan la numeración de residuo mediante el sistema de numeración de Kabat. A menos que se indique lo contrario en este documento, las referencias a números de residuos en el dominio constante de anticuerpos significan la numeración de residuos mediante el sistema de numeración de la UE (por ejemplo, véase Publicación de Solicitud de Patente de los Estados Unidos US 2008/0181888 A1, Figuras para la numeración de la UE).

Un anticuerpo de "afinidad madurada" es aquella con una o más alteraciones en una o más HVR de los mismos que dan como resultado una mejora en la afinidad del anticuerpo para el antígeno, en comparación con un anticuerpo primario que no posee esa(s) alteración(es). En una realización, un anticuerpo de afinidad madurada tiene afinidades nanomolares o incluso picomolares para el antígeno objetivo. Los anticuerpos de afinidad madurada pueden ser producidos utilizando ciertos procedimientos conocidos en la técnica. Por ejemplo, Marks y

col. Bio/Technology 10:779-783 (1992) describen la maduración de afinidad mediante el barajado de dominios VH y VL. La mutagénesis aleatoria de residuos de HVR y/o marco se describe mediante, por ejemplo, en Barbas y col. Proc Nat. Acad. Sci. USA. 91:3809-3813 (1994); Schier y col. Gene 169:147-155 (1995); Yelton y col. J. Immunol. 155:1994-2004 (1995); Jackson y col, J. Immunol. 154 (7):3310-9 (1995); y Hawkins y col., J. Mol. Biol. 226:889-896 (1992).

Las "funciones efectoras" del anticuerpo se refieren a aquellas actividades biológicas atribuibles a la región Fc (una región Fc de la secuencia nativa o una región Fc de secuencia variante de aminoácidos) de un anticuerpo, y variará con el isotipo del anticuerpo. Ejemplos de las funciones efectoras del anticuerpo incluyen: unión Clq y citotoxicidad dependiente del complemento (CDC); unión de receptor Fc; citotoxicidad mediada por células dependientes de anticuerpos (ADCC); fagocitosis; baja regulación de los receptores de superficie celular (por ejemplo, receptor de las células B); y activación de células B.

La "afinidad de unión" se refiere generalmente a la fuerza de la suma total de las interacciones no covalentes entre un único sitio de unión de una molécula (por ejemplo, un anticuerpo) y su par de unión (por ejemplo, un antígeno). A menos que se indique lo contrario, como se usa aquí, "afinidad de unión" se refiere a la afinidad de unión intrínseca que

54

refleja una interacción 1:1 entre miembros de un par de unión (por ejemplo, anticuerpo y antígeno). La afinidad de una molécula X para su par Y generalmente se puede representar por la constante de disociación (K_d). La afinidad se puede medir por métodos comunes conocidos en la técnica, incluyendo los descritos en este documento. Los anticuerpos de baja afinidad generalmente se unen lentamente al antígeno y tienden a disociarse fácilmente, mientras que los anticuerpos de alta afinidad se unen al antígeno generalmente más rápido y tienden a permanecer enlazados por más tiempo. Una variedad de métodos para medir la afinidad de unión son conocidos en la técnica, cualquiera de los cuales se puede usar para los fines de la presente invención. Las realizaciones ilustrativas y ejemplares específicas para medir la afinidad de unión se describen a continuación.

En una realización, la " K_d " o "valor de K_d ", de acuerdo con esta invención se mide mediante un ensayo de unión al antígeno radiomarcado (RIA), realizado con la versión Fab de un anticuerpo de interés y su antígeno como se describe en el siguiente ensayo. La afinidad de unión de la solución de Fabs para el antígeno se mide mediante el equilibrio de Fab con una concentración mínima de antígeno marcado con (^{125}I) en la presencia de una serie de titulación de antígeno no marcado, capturando luego el antígeno ligado con una placa recubierta de anticuerpo anti-Fab (véase, por ejemplo, Chen y col., J. Mol. Biol. 293:865-881 (1999)). Para establecer condiciones

para el ensayo, las placas de múltiples pozos MICROTITER® (Thermo Scientific) se recubren durante la noche con 5 µg/ml de un anticuerpo anti-Fab de captura (Cappel Labs) en 50 mM de carbonato sódico (pH 9.6), y posteriormente se bloquearon con 2% (w/v) de albúmina de suero bovino en PBS durante dos a cinco horas a temperatura ambiente (aproximadamente 23 °C). En una placa no adsorbente (Nunc #269620), se mezclan 100 pM o 26 pM de antígeno [¹²⁵I] con diluciones seriadas de un Fab de interés (por ejemplo, de acuerdo con la evaluación del anticuerpo anti-VEGF, Fab-12, en Presta y col., Cancer Res. 57:4593-4599 (1997)). El Fab de interés se incuba luego durante la noche, sin embargo, la incubación puede continuar durante un período más largo (por ejemplo, aproximadamente 65 horas) para asegurar que se alcance el equilibrio. En lo sucesivo, las mezclas son transferidas a la placa de captura para la incubación a temperatura ambiente (por ejemplo, durante una hora). La solución entonces se retira y la placa se lava ocho veces con 0.1% de TWEEN-20™ en PBS. Cuando las placas se han secado, se añade 150 µl/pozo (MICROSCINT-20™; Packard) brillante, y las placas se contaron en un contador gamma TOPCOUNT™ (Packard) durante diez minutos. Las concentraciones de cada Fab que dan menor o igual a 20% de la unión máxima se eligen para su uso en ensayos de unión competitiva.

De acuerdo con otra realización, el valor de K_d o K_d se mide mediante el uso de ensayos de resonancia de plasmones

superficiales utilizando un BIACORE®-2000 o un BIACORE®-3000 (BIAcore, Inc., Piscataway, NJ) a 25° C con chips CM5 de antígeno inmovilizado en aproximadamente 10 unidades de respuesta (RU). Brevemente, los chips biosensores de dextrano carboximetilado (CM5, BIAcore, Inc.) se activan con clorhidrato de N-etil-N'-(3-dimetilaminopropil)-carbodiimida (EDC) y N-hidroxisuccinimida (NHS) de acuerdo con las instrucciones del proveedor. El antígeno se diluye con 10 mM de acetato sódico, pH 4.8, a 5 µg/ml (aproximadamente 0.2 µM) antes de la inyección a un índice de flujo de 5 µl/minuto para alcanzar aproximadamente 10 unidades de respuesta (RU) de la proteína acoplada. Luego de la inyección del antígeno, 1 M de etanolamina es inyectado para bloquear grupos no reaccionados. Para las mediciones cinéticas, las diluciones seriadas dos veces de Fab (0.78 nM a 500 nM) se inyectan en PBS con 0.05% de tensioactivo TWEEN-20™ (PBST) a 25 °C a una velocidad de flujo de aproximadamente 25 µl/min. Las tasas de asociación (K_{on}) y las tasas de disociación (K_{off}) se calculan utilizando un modelo de unión simple de uno-a-uno de Langmuir (BIACORE® versión de Software de Evaluación 3.2) mediante la adecuación simultánea de los sensorgramas de asociación y disociación. La constante de disociación en el equilibrio (K_d) se calcula como la relación K_{off}/K_{on} . Véase, por ejemplo, Chen y col., J. Mol. Biol. 293:865-881 (1999). Si la tasa de asociación excede $10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ mediante el ensayo de resonancia de plasmones superficiales antes mencionado, entonces la tasa de asociación puede ser determinada mediante el uso de una técnica de

57

absorción fluorescente que mide el aumento o disminución de la intensidad de emisión de fluorescencia (excitación = 295 nm ; emisión = 340 nm, 16 nm de paso de banda) a 25 °C de un 20 nM de anticuerpo de anti-antígeno (forma Fab) en PBS, pH 7,2, en presencia de concentraciones cada vez más elevadas de antígeno según medición en un espectrómetro, tales como un espectrofotómetro equipado con control de flujo (Aviv Instruments) o un espectrofotómetro de SLM-AMINCO™ serie 8000 (ThermoSpectronic) con una cubeta con agitador.

Una "tasa de asociación", o " K_{on} ", de acuerdo con esta invención también puede ser determinada como se ha descrito anteriormente, utilizando un sistema BIACORE ®-2000 o un BIACORE ® -3000 (BIAcore, Inc., Piscataway, NJ).

Un "trastorno" es cualquier afección o enfermedad que se beneficiaría del tratamiento con una composición o el método de la invención. Esto incluye los trastornos crónicos y agudos, incluyendo las condiciones patológicas que predisponen al mamífero al trastorno en cuestión. Los ejemplos no limitantes de los trastornos que se tratarán aquí incluyen afecciones tales como el cáncer.

Los términos "trastorno de proliferación celular" y "trastorno proliferativo" se refieren a los trastornos que se asocian con cierto grado de proliferación celular anormal. En

una realización, el trastorno proliferativo celular es el cáncer.

"Tumor", como se usa aquí, se refiere a todo crecimiento y proliferación celular neoplásica, ya sea maligna o benigna, y todas las células y tejidos pre-cancerosos y cancerosos. Los términos "cáncer", "canceroso", "trastorno proliferativo celular", "trastorno proliferativo" y "tumor" no son mutuamente excluyentes como se refieren en el presente documento.

Los términos "cáncer" y "canceroso" se refieren a, o describen la condición fisiológica en los mamíferos que se caracteriza por un crecimiento/proliferación celular no regulado. Ejemplos de cáncer incluyen pero no están limitados a, carcinoma, linfoma, blastoma, sarcoma y leucemia. Ejemplos más concretos de este tipo de cáncer incluyen cáncer de células escamosas, cáncer de pulmón de célula pequeña, cáncer de pulmón de célula no pequeña, adenocarcinoma de pulmón, carcinoma escamoso de pulmón, cáncer del peritoneo, cáncer hepatocelular, cáncer gastrointestinal, cáncer pancreático, glioblastoma, cáncer cervical, cáncer de ovario, cáncer de hígado, cáncer de vejiga, hepatoma, cáncer de mama, cáncer de colon, cáncer colorrectal, carcinoma de endometrio o de útero, carcinoma de la glándula salival, cáncer de riñón, cáncer de hígado, cáncer de próstata, cáncer de vulva, cáncer de tiroides, carcinoma hepático, cáncer gástrico, melanoma, y

varios tipos de cáncer de cabeza y cuello. La desregulación de la angiogénesis puede conducir a muchos trastornos que pueden ser tratados por composiciones y métodos de la invención. Estos trastornos incluyen tanto las afecciones no neoplásicas como neoplásicas. Los trastornos neoplásicos incluyen pero no se limitan a los descritos anteriormente. Los trastornos no neoplásicos incluyen pero no se limitan a la hipertrofia no deseada o aberrante, artritis, artritis reumatoide (RA), psoriasis, placas psoriásicas, sarcoidosis, aterosclerosis, placas arterioscleróticas, retinopatías diabéticas y otras proliferativas, incluyendo la retinopatía de premadurez, fibroplasia retrolental, glaucoma neovascular, degeneración macular relacionada con la edad, edema macular diabético, neovascularización corneal, neovascularización del injerto de córnea, rechazo del injerto de córnea, neovascularización de la retina/coroides, neovascularización del ángulo (rubeosis), enfermedad neovascular ocular, restenosis vascular, malformaciones arteriovenosas (AVM), meningioma, hemangioma, angiofibroma, hiperplasias de tiroides (incluyendo la enfermedad de Grave), trasplante de la córnea y otro tipo de tejido, inflamación crónica, inflamación pulmonar, lesión pulmonar aguda/ARDS, sepsis, hipertensión pulmonar primaria, derrames pulmonares malignos, edema cerebral (por ejemplo, asociado con el accidente cerebrovascular agudo/ lesión cerrada en la cabeza /trauma), inflamación sinovial, formación de pannus en RA, miositis osificante, formación de hueso hipertrófico, osteoartritis (OA), ascitis refractaria,

enfermedad de ovario poliquístico, endometriosis, enfermedades de fluidos con un espaciamiento 3 (pancreatitis, síndrome compartimental, quemaduras, enfermedad del intestino), fibromas uterinos, parto prematuro, inflamación crónica como la IBD (enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa), rechazo del trasplante renal, enfermedad inflamatoria intestinal, síndrome nefrótico, crecimiento de la masa del tejido no deseado o aberrante (no canceroso), articulaciones hemofílicas, cicatrices hipertróficas, inhibición del crecimiento del cabello, síndrome de Osler-Weber, fibroplasia retrolental de granuloma piogénico, esclerodermia, tracoma, adherencias vasculares, sinovitis, dermatitis, pre-eclampsia, ascitis, derrame pericárdico (como la que se asocia con pericarditis), y derrame pleural.

El término "leucemia" se refiere a una enfermedad aguda o crónica que se caracteriza por un aumento anormal en el número de glóbulos blancos (leucocitos) en los tejidos hematopoyéticos, otros órganos, y con frecuencia en la sangre. Las leucemias incluyen, pero no se limitan a, leucemia linfoblástica aguda (ALL), incluyendo leucemia linfoblástica aguda de linaje T (T-ALL), así como otras leucemias linfocíticas; leucemia/linfoma de células T adultas; leucemia mieloide crónica (mielógena) (CML), leucemia mieloide aguda (mielógena) (AML), y otras leucemias granulocíticas y leucemias de linaje switch.

El término "leucemia de células T" se refiere a una leucemia caracterizada por un aumento anormal en el número de linfoblastos de linaje T o linfocitos T.

El término "leucemia de célula T progenitora" se refiere a una leucemia caracterizada por un aumento anormal en el número de linfoblastos de linaje T.

Un "cáncer sensible al GSI" es un cáncer (tal como una leucemia) que responde a un inhibidor de la gamma secretasa o que respondería a un inhibidor de la gamma secretasa si se trata con el mismo.

Un cáncer que "responde" a un agente terapéutico es aquel que muestra una disminución significativa en la progresión del cáncer o del tumor, incluyendo pero no limitado a, (1) la inhibición, en cierta medida, del crecimiento del tumor, incluyendo la reducción y la detención del crecimiento completo; (2) reducción en el número de células cancerígenas o tumorales, (3) reducción del tamaño del tumor, (4) inhibición (es decir, reducción, ralentización o detención completa) de la infiltración de las células cancerosas en los órganos y/o tejidos periféricos adyacentes; y/o (5) inhibición (es decir, reducción, ralentización o detención completa) de metástasis.

Un cáncer que "no responde a un antagonista de Notch1 específico" es un cáncer que no responde al tratamiento con un

antagonista de Notch1 específico (en ausencia de cualquier otro antagonista de Notch, es decir, un antagonista de Notch2, Notch3 o Notch4), o que no respondería a dicho tratamiento si se administra.

Como se usa aquí, "tratamiento" (y variaciones tales como "tratar" o "tratando") se refiere a la intervención clínica en un intento de alterar el curso natural del individuo o célula a tratar, y se puede realizar ya sea por profilaxis o durante el curso de la patología clínica. Los efectos deseados del tratamiento incluyen la prevención de la ocurrencia o recurrencia de la enfermedad, el alivio de los síntomas, disminución de cualquier consecuencia patológica directa o indirecta de la enfermedad, la prevención de la metástasis, la disminución de la tasa de progresión de la enfermedad, la mejoría o alivio del estado de la enfermedad, y la remisión o mejora del pronóstico. En algunas realizaciones, los anticuerpos de la invención se utilizan para retardar el desarrollo de una enfermedad o trastorno o para retardar la progresión de una enfermedad o trastorno.

Un "individuo", "sujeto" o "paciente" es un vertebrado. En ciertas realizaciones, el vertebrado es un mamífero. Los mamíferos incluyen, pero no se limitan a, los animales de granja (como vacas), animales de deporte, mascotas (tales como gatos, perros y caballos), primates, ratones y ratas. En ciertas realizaciones, un mamífero es un ser humano.

El término "formulación farmacéutica" se refiere a una preparación que está en forma tal que permite que la actividad biológica del ingrediente activo sea eficaz, y que no contiene componentes adicionales que son inaceptablemente tóxicos para un sujeto al cual se administraría la formulación. Tales formulaciones pueden ser estériles.

Una "cantidad eficaz" se refiere a una cantidad eficaz, en dosificaciones y durante períodos de tiempo necesarios, para conseguir el resultado terapéutico o profiláctico deseado.

II. REALIZACIONES DE LA INVENCION

La presente invención se refiere, en parte, a la caracterización de las diferentes clases de T-ALL. Una clase de T-ALL es sensible al tratamiento con GSI, que es un inhibidor de pan-Notch, y también es sensible al tratamiento con un antagonista de Notch1 específico, lo que indica que Notch1 específicamente impulsa esta clase de T-ALL. Otra clase de T-ALL es sensible al tratamiento con GSI, pero insensible (es decir, resistente) al tratamiento con un antagonista de Notch1 específico, lo que indica que un receptor Notch alternativo o adicional puede conducir esta clase de T-ALL. Como se muestra aquí, los inventores han descubierto que esta última clase de T-ALL es parcialmente sensible al tratamiento

con un antagonista de Notch3 específico, y aún más sensible a una combinación de un antagonista de Notch1 específico y un antagonista de Notch3 específico. Estos resultados sugieren una función tanto para Notch1 como para Notch3 en las leucemias, particularmente leucemias de células T y células T progenitoras como T-ALL.

A. Métodos de Tratamiento

1. El tratamiento del cáncer con un antagonista de Notch3 específico, solo o en combinación con un antagonista de Notch1 específico

En diversos aspectos de la invención, se proporcionan métodos de tratamiento de un cáncer sensible al GSI, el método que comprende administrar a un paciente que tiene dicho cáncer una cantidad eficaz de un antagonista de Notch3 específico. En ciertas realizaciones, el cáncer de sensible al GSI es la leucemia. En ciertas realizaciones, el cáncer sensible al GSI no responde a un antagonista de Notch1 específico, por ejemplo, el cáncer tiene los niveles de Notch3 activado significativamente elevados y/o el cáncer tiene niveles ausentes o reducidos de Notch1 activado. En una realización adicional, el método comprende además la administración de una cantidad eficaz de un antagonista de Notch1 específico. Estos y otros aspectos de la invención se describen a continuación.

65

En un aspecto particular de la invención, se proporciona un método para tratar una leucemia sensible al GSI que no responde a un antagonista de Notch1 específico, el método que comprende administrar a un paciente que tiene tal leucemia una cantidad eficaz de un antagonista de Notch3 específico.

Una leucemia sensible al GSI puede ser identificada de varias maneras. Por ejemplo, un paciente que tiene leucemia puede ser tratado con un GSI para determinar si la leucemia es sensible al GSI o no. Tal GSI puede incluir cualquier GSI que inhibe de forma significativa los receptores Notch. Tal GSI incluye, pero no se limita a, N-[N-(3,5-difluorofenacetyl)-L-alanyl]-S-fenilglicina t-butil éster (DAPT); dibenzazepine; MK-0752 (Merck); el tripéptido z-Leu-Leu-Nle-CHO (Curry y col., Oncogene 24:6333-6344.); y cbz-IL CHO-(Weijzen y col., Nat. Med. 8:979-986, 2002.). Se observa, sin embargo, que un paciente que tiene leucemia no necesita haber sido tratado con un GSI con el fin de determinar si la leucemia es sensible al GSI. Otros métodos pueden ser empleados. Por ejemplo, las células leucémicas retiradas del paciente pueden ser evaluadas para la proliferación o la supervivencia celular en presencia de un GSI, tal como cualquiera de los enumerados anteriormente. En un ejemplo adicional, las células leucémicas retiradas del paciente pueden ser examinadas para el aumento de señalización Notch por uno o más receptores Notch, que predecirían que las células son sensibles al GSI. Por ejemplo, las células pueden ser evaluadas para detectar la presencia de

una receptor Notch mutado, sobreexpresado, o activado. Los métodos similares a los descritos anteriormente pueden ser utilizados para determinar si cualquier tipo de cáncer es sensible al GSI.

Una leucemia (por ejemplo, una leucemia sensible al GSI) puede ser identificada como una que no responde a un antagonista de Notch1 específico de varias maneras. Por ejemplo, un paciente que tiene una leucemia puede ser tratado con un antagonista de Notch1 específico para determinar si la leucemia responde al antagonista de Notch1 específico o no. En ciertas realizaciones, el antagonista de Notch1 específico al que una leucemia no responde es un anticuerpo antagonista anti-Notch1. En dicha realización, el anticuerpo antagonista anti-Notch1 es un anticuerpo que se une al dominio extracelular de Notch1 y efectúa la disminución de señalización Notch1. En tal realización, el anticuerpo antagonista anti-Notch1 es un anticuerpo anti-Notch1 NRR. Los anticuerpos anti-Notch1 NRR incluyen, pero no se limitan a, cualquiera de los anticuerpos anti-Notch1 NRR divulgados en la Publicación de Solicitud de los Estados Unidos N° US 2009/0081238 A1, que se incorpora expresamente aquí como referencia en su totalidad. Tales anticuerpos incluyen, pero no se limitan a, los anticuerpos anti-Notch1 NRR que se unen a Notch1 NRR con una afinidad $\leq 0.1 \mu\text{M}$; anticuerpos anti-Notch1 NRR que se unen a LNR-A, LNR-B y HD-C de Notch1 NRR; o una combinación de los anteriores. Los anticuerpos de anti-Notch1

67

NRR ejemplares incluyen pero no se limitan a los anticuerpos A, A-1, A-2 y A-3 como se ha descrito en US 2009/0081238 A1, o anticuerpos que comprenden las CDR de región variable de la cadena pesada y ligera de un anticuerpo seleccionado del Anticuerpo A, A-1, A-2 y A-3. En otra realización, un anticuerpo antagonista anti-Notch1 es un anticuerpo anti-Notch1 que se une a una o más repeticiones similares a EGF de Notch1. Ejemplos de dichos anticuerpos se describen en la Publicación Internacional N° WO 2008/091641. En ciertas realizaciones, un anticuerpo anti-Notch1 que se une a una o más repeticiones similares a EGF de Notch efectúa la disminución de señalización Notch1 bloqueando significativamente la unión del ligando a Notch1.

Se observa, sin embargo, que un paciente que tiene leucemia no necesita haber sido tratado con un antagonista de Notch1 específica con el fin de determinar si la leucemia es una que no responde a un antagonista de Notch1 específica. Otros métodos pueden ser empleados. Por ejemplo, las células leucémicas retiradas del paciente pueden ser evaluadas para la activación de Notch1 ausente o reducido, o en ciertas realizaciones, la presencia de Notch1 de tipo natural, que predeciría que la leucemia es una que no responde a un antagonista de Notch1 específico. Por ejemplo, las células pueden ser evaluadas para la señalización Notch1 ausente o reducido mediante la evaluación de la transcripción ausente o reducida de los genes objetivo de Notch1, tales como Hey1 y

Hey2. En un ejemplo adicional, las células pueden ser evaluadas para señalización Notch1 ausente o reducido mediante la detección de niveles ausentes o reducidos de una forma activada de Notch1, por ejemplo, mediante el uso de un anticuerpo específico para Notch1 activado tales como Notch1 Val1744 anti-activo (disponible comercialmente de Cell Signaling Technologies). En ciertas realizaciones, una célula comparadora adecuada (control positivo) puede ser una célula leucémica que responde a un antagonista de Notch1 específico, por ejemplo, una célula leucémica en la cual se activa la vía Notch1. Tal célula comparadora puede incluir, por ejemplo, una célula T-ALL en la que Notch1 se sabe que está sobreexpresado, mutado (por ejemplo, que tiene una mutación activadora de Notch1) o activado (por ejemplo, constitutivamente activado), tal como una célula de HPB-ALL. Si las células leucémicas retiradas de un paciente tienen niveles ausentes o significativamente reducidos de Notch1 activado en comparación con la célula comparadora, entonces, la leucemia del paciente es presuntamente una que no responde a un antagonista de Notch1 específico.

Las células leucémicas también pueden ser evaluadas para la activación de Notch3, lo que indica que la vía Notch3 es activado y que la leucemia, por consiguiente, se prevé que es una que no responde a un antagonista de Notch1 específico. En una realización, las células leucémicas pueden ser examinadas para detectar la presencia de Notch3 activado, mutado o

sobreexpresado. En ciertas realizaciones, una célula comparadora adecuada (control negativo) a efectos de evaluar el estado de activación de Notch3 puede ser una célula leucémica que responde a un antagonista de Notch1 específico, por ejemplo, una célula leucémica en la cual se activa la vía Notch1. Tal célula comparadora puede incluir, por ejemplo, una célula de T-ALL en la que Notch1 se sabe que está sobreexpresado, mutado o activado tal como una célula de HPB-ALL. En dicha célula, Notch3 no se espera que sea significativamente activado. Por lo tanto, si las células leucémicas retiradas de un paciente tienen niveles significativamente elevados de Notch3 activado en comparación con la célula comparadora, entonces, la leucemia del paciente es presuntamente una que no responde a un antagonista de Notch1 específico.

En otras realizaciones, una célula comparadora adecuada (control positivo) puede ser una célula leucémica en la que Notch3 se sabe que está sobreexpresado, mutado o activado, tal como una célula de TALL-1. En dicha célula, Notch3 se espera que tenga niveles significativamente elevados de Notch3 activado. Por lo tanto, si las células leucémicas retiradas de un paciente tienen niveles comparables de Notch3 activado en comparación con la célula comparadora, entonces, la leucemia del paciente es presuntamente una que no responde a un antagonista de Notch1 específico. Métodos similares a los descritos anteriormente se pueden utilizar para determinar si

cualquier cáncer es uno que no responde a un antagonista de Notch1 específico.

Una herramienta útil para evaluar el estado de activación de Notch3 es el nuevo anticuerpo anti-Notch3 ICD descrito en los Ejemplos, que se une al Notch3 ICD activado.

En ciertas realizaciones, el antagonista de Notch3 específico que se administra es un anticuerpo antagonista anti-Notch3. En tal realización, el anticuerpo antagonista anti-Notch3 es un anticuerpo que se une al dominio extracelular de Notch3 y efectúa la disminución de la señalización Notch3. En dicha realización, el anticuerpo antagonista anti-Notch3 es un anticuerpo anti-Notch3 NRR. Los anticuerpos anti-Notch3 NRR incluyen, pero no se limitan a, cualquiera de los anticuerpos anti-Notch3 NRR divulgados en la Publicación de Solicitud de Patente de Estados Unidos N° US 2008/0226621 A1, que se incorpora expresamente aquí como referencia en su totalidad. Tales anticuerpos incluyen, pero no se limitan a los anticuerpos anti-Notch3 NRR que se unen a los dominios LNR-A y HD-C de Notch3 NRR. Los anticuerpos de anti-Notch3 NRR ejemplares son anticuerpos monoclonales 256A-4 y 256A-8, como se ha descrito en US 2008/0226621 A1, y formas humanizadas de los mismos, así como anticuerpos de anti-Notch3 NRR que comprenden las CDR de la región variable de cadena pesada y ligera del anticuerpo 256A-4 o 256A-8. En otra realización, un anticuerpo antagonista anti-Notch3 es un

anticuerpo anti-Notch3 que se une a una o más repeticiones similares a EGF de Notch3. Los ejemplos de tales anticuerpos se describen en Li y col., J. Biol. Chem. 283:8046-8054, 2008. En ciertas realizaciones, un anticuerpo anti-Notch3 que se une a una o más repeticiones similares a EGF de Notch3 efectúa la disminución de señalización Notch3 bloqueando significativamente la unión del ligando a Notch3.

En ciertas realizaciones, una leucemia es una leucemia de células T. En ciertas realizaciones, una leucemia de células T es una leucemia de células T progenitoras. En ciertas realizaciones, una leucemia de células T progenitoras es T-ALL.

En otras realizaciones, se proporciona un método para el tratamiento de un cáncer sensible al GSI que no responde a un antagonista de Notch1 específico, el método que comprende administrar a un paciente que tiene cáncer, una cantidad eficaz de un antagonista de Notch3 específico y, además, que comprende administrar a dicho paciente una cantidad eficaz de un antagonista Notch-1 específico. En ciertas realizaciones, el cáncer sensible al GSI es una leucemia sensible al GSI. En ciertas realizaciones, el antagonista de Notch1 específico a ser administrado es un anticuerpo antagonista anti-Notch1. En dicha realización, el anticuerpo antagonista anti-Notch1 es un anticuerpo que se une al dominio extracelular de Notch1 y efectúa la disminución de la señalización Notch1. En dicha

realización, el anticuerpo antagonista anti-Notch1 es un anticuerpo de anti-Notch1 NRR. Los anticuerpos de anti-Notch1 NRR incluyen, pero no se limitan a, cualquiera de los anticuerpos de anti-Notch1 NRR divulgados en la Publicación de Solicitud de los Estados Unidos N° US 2009/0081238 A1, que se incorpora expresamente aquí como referencia. Tales anticuerpos incluyen, pero no se limitan a, los anticuerpos de anti-Notch1 NRR que se unen a Notch1 NRR con una afinidad $\leq 0.1 \mu\text{M}$; anticuerpos de anti-Notch1 NRR que se unen a LNR-A, LNR-B y HD-C de Notch1 NRR; o una combinación de los anteriores. Los anticuerpos de anti-Notch1 NRR ejemplares incluyen pero no se limitan a los anticuerpos A, A-1, A-2 y A-3 como se describe en US 2009/0081238 A1, o anticuerpos que comprenden las CDR de la región variable de la cadena pesada y ligera de un anticuerpo seleccionado del Anticuerpo A, A-1, A-2 y A-3. En otra realización, el anticuerpo antagonista anti-Notch1 es un anticuerpo anti-Notch1 que se une a una o más repeticiones similares a EGF de Notch1. Ejemplos de tales anticuerpos se describen en la Publicación Internacional No. WO 2008/091641. En ciertas realizaciones, un anticuerpo anti-Notch1 que se une a una o más repeticiones similares a EGF de Notch1 efectúa la disminución de señalización Notch1 bloqueando significativamente la unión del ligando a Notch1.

2. Tratamiento de la leucemia con un antagonista de Notch1 específico

Otros aspectos de la invención se basan, en parte, en la identificación de una clase de T-ALL que es sensible al GSI y también es sensible a un antagonista de Notch1 específico, pero no es sensible a un antagonista de Notch3 específico, lo que indica que Notch1 impulsa la T-ALL. En diversos aspectos de la invención, se proporcionan los métodos para el tratamiento de un cáncer sensible al GSI, el método que comprende administrar a un paciente que tiene cáncer una cantidad eficaz de un antagonista de Notch1 específico. En ciertas realizaciones, el cáncer sensible al GSI es la leucemia. En ciertas realizaciones, el cáncer sensible al GSI no responde a un antagonista de Notch3 específico, por ejemplo, el cáncer tiene niveles ausentes o reducidos de Notch3 activado (por ejemplo, en comparación con una célula comparadora que responde a un antagonista de Notch3 específico) y/o tiene niveles significativamente elevados de Notch1 activado (por ejemplo, en comparación con una célula comparadora que no responde a un antagonista de Notch1 específico).

En ciertas realizaciones, la leucemia pertenece a una clase de leucemias caracterizadas por la sensibilidad al GSI y sensibilidad a un antagonista de Notch1 específico. En una realización, la leucemia es una leucemia de células T. En dicha realización, la leucemia de células T es una leucemia de

células T progenitoras. En dicha realización, la leucemia de células T es T-ALL. En otra realización, la leucemia se caracteriza por una mutación activadora de Notch1.

En ciertas realizaciones, un antagonista de Notch1 específico es cualquiera de los provistos anteriormente. En otras realizaciones, un antagonista de Notch3 específico es cualquiera de los provistos anteriormente.

B. Composiciones y Métodos de Diagnóstico

La invención proporciona además un anticuerpo que se une a Notch3 ICD humano activado. En una realización, el anticuerpo se une a la secuencia peptídica VMVARRKREHSTLW (SEQ ID NO: 4). En una realización, el anticuerpo es monoclonal. En una realización, el anticuerpo es policlonal. Las realizaciones anteriores pueden estar presentes solos o en combinación.

Dicho anticuerpo es útil en métodos de diagnóstico, por ejemplo, para identificar poblaciones de pacientes adecuados para el tratamiento con un antagonista de Notch3 específico, como se describió anteriormente. Por consiguiente, en ciertas realizaciones, se proporciona un método de identificación de un cáncer adecuado para el tratamiento con un antagonista de Notch3, el método que comprende determinar si Notch3 es activado en el cáncer. En una realización, el cáncer es un

cáncer sensible al GSI. En otra realización, el cáncer es una leucemia. En otra realización, la leucemia es una leucemia de células T. En dicha realización, la leucemia de células T es una leucemia de células T progenitoras. En dicha realización, la leucemia de células T es T-ALL.

En otras realizaciones, determinar si Notch3 es activado en el cáncer comprende poner en contacto una muestra del cáncer con un anticuerpo que se une a Notch3 ICD activado, y determinar si los niveles significativamente elevados de Notch3 activado (como se refleja en los niveles de Notch3 ICD activado) están presentes, en donde la presencia de niveles significativamente elevados de Notch3 activado indica que el cáncer es adecuado para el tratamiento con un antagonista de Notch3. Para determinar si los niveles significativamente elevados de Notch3 activado están presentes en la muestra, un comparador apropiado (control positivo) puede ser, por ejemplo, una muestra de un cáncer conocido para responder a un antagonista de Notch3. Si la muestra de "prueba" y la muestra de "control" contienen niveles comparables de Notch3 activado, entonces el cáncer del cual se obtuvo la muestra de "prueba" es adecuado para el tratamiento con un antagonista de Notch3. Otro comparador adecuado (control negativo) puede ser, por ejemplo, una muestra de un cáncer que no responde a un antagonista de Notch3. Si la muestra de "prueba" contiene niveles significativamente elevados de Notch3 activado en comparación con la muestra de control, entonces el cáncer del

cual se obtuvo la muestra de "prueba" es adecuado para el tratamiento con un antagonista de Notch3.

En ciertas realizaciones de los métodos anteriores, un antagonista de Notch3 es un antagonista de Notch3 específico. En ciertas realizaciones, un antagonista de Notch3 específico es cualquiera de los descritos anteriormente.

III. EJEMPLOS

A. T-ALL encaja en tres clases

Estudios previos han demostrado que las líneas celulares de T-ALL pueden ser sensibles o insensibles al tratamiento con los GSI. Por ejemplo, ciertas líneas celulares de T-ALL son resistentes al GSI a pesar de la expresión de las mutaciones activadoras de Notch1, posiblemente debido a la activación de una vía no-Notch, por ejemplo, una vía que evita la necesidad de Notch. (Véase, por ejemplo, Palomero y col., Nat. Med. 13:1203-1210, 2007). Sin embargo, en un estudio, cinco de las treinta líneas celulares de T-ALL fueron sensibles al GSI, mostrando la detención del ciclo celular en respuesta al GSI. (Véase Weng y col., Science, 306:269-271, 2004.) Los estudios informados a continuación exploraron además la respuesta de las líneas celulares de T-ALL no sólo al GSI, sino también a los antagonistas de Notch1 y Notch3 específicos.

77

Tres clases de T-ALL se caracterizan en base a su sensibilidad a GSI y a un antagonista de Notch1 específico. El antagonista de Notch1 específico usado en los siguientes estudios fue el anticuerpo de la NRR anti-Notch1, "Anticuerpo A-2," el aislamiento y la caracterización de los cuales se trata en la Publicación de Solicitud de Patente de Estados Unidos N° US 2009/0081238 A1. Para mayor conveniencia, "Anticuerpo A-2" se denomina aquí como "anti-NRR1," y también se conoce como " α -Notch1", "aNotch1", o " α -N1" en las figuras.

Las Figuras 3-5 presentan la clasificación de tres las líneas celulares representativas de T-ALL humana. Esas líneas celulares incluyen la línea celular Ichikawa P-12, la línea celular HPB-ALL, y la línea celular de TALL-1. Las células se cultivaron durante ocho días en condiciones de control (DMSO solo (el excipiente para DAPT) o anti-gD (un anticuerpo de control de isotipo)); en presencia del inhibidor de la gamma-secretasa, DAPT (5 μ M), o en presencia de anti-NRR1 (5 μ g/ml). Las células se fijaron, teñidas con yoduro de propidio y preparadas por FACS para analizar el estado del ciclo celular, de acuerdo con procedimientos estándar. La sensibilidad de crecimiento se evaluó examinando si un tratamiento dado causó un aumento en el porcentaje de células en G0/G1 con una disminución correspondiente en el porcentaje de células en S/G2/M. Los resultados muestran que las células Ichikawa P-12 son resistentes tanto a DAPT como anti-NRR1 (Figura 3A-3D), sin una diferencia significativa en el estado de ciclo celular

entre las células tratadas por DAPT, tratadas anti-NRR1, y el control (tratados con DMSO y anti-gD). Las células HPB-ALL son sensibles tanto a DAPT como anti-NRR1 (Figura 4A-4D), con las células tratadas con DAPT y anti-NRR1 que muestra aproximadamente 78% y 76% de las células en G0/G1, respectivamente, en comparación a aproximadamente 33 -34% de las células de control. Las células TALL-1 son sensibles a DAPT pero resistentes a anti-NRR1 (Figura 5A-5D), con aproximadamente 87% de células tratadas con DAPT en G0/G1, en comparación con aproximadamente 55% de las células tratadas anti-NRR1 y aproximadamente 53 -54% de las células de control. Se observa que Notch1 no está mutado en células TALL-1. Otros estudios revelaron que una cuarta línea celular, CCRF-CEM, encaja en la misma clase de células Ichikawa P-12 (es decir, resistente tanto al GSI como anti-NRR1). (Los datos no se muestran en la Figura 10.)

Como se muestra en la Figura 6, las mediciones del tamaño de las células reflejan estas tres clases de T-ALL. La línea celular Ichikawa P-12, la línea celular HPB-ALL, y la línea celular TALL-1 fueron cultivadas durante aproximadamente una semana en condiciones de control (DMSO solo (el excipiente para DAPT) o anti-gD (un anticuerpo de control de isotipo)); en presencia del inhibidor de la gamma-secretasa, DAPT (5 μ M), o en la presencia de anti-NRR1 (5 μ g/ml). El diámetro de la célula se midió utilizando un contador de células (Vi-Cell, Beckman Coulter). De acuerdo con los estudios de inhibición

del crecimiento, la línea Ichikawa P-12 es resistente tanto a DAPT como anti-NRR1, como se indica por el diámetro de célula relativamente consistente entre las células de control y las células tratadas. HPB-ALL es sensible tanto a DAPT como anti-NRR1, como se indica por el tamaño significativamente más pequeño de las células tratadas con esos agentes, respectivamente. TALL-1 es sensible a DAPT pero resistente a anti-NRR1, como se indica por el tamaño significativamente más pequeño de las células tratadas con DAPT pero no con anti-NRR1 o agentes de control. Estos resultados son consistentes con los estudios de crecimiento descritos anteriormente.

Como se muestra en la Figura 7, las mediciones de apoptosis también reflejan estas tres clases de T-ALL. La línea celular Ichikawa P-12, la línea celular HPB-ALL, y la línea celular TALL-1 fueron tratadas como se ha descrito anteriormente en la Figura 6. Las células se analizaron por FACS, con la tinción de 7-AAD (marcador de muerte celular) en el eje x de la figura 7, y la tinción de Anexina V (marcador de la apoptosis) en el eje y de la Figura 7. Con base en el porcentaje de células en la población doblemente positiva, el tratamiento con DAPT o anti-NRR1 aumenta la muerte celular apoptótica en células HPB-ALL. En cambio, las células Ichikawa P-12 son resistentes a ambos tratamientos, mientras que las células TALL-1 son sensibles a DAPT pero no a anti-NRR1. Estos resultados son consistentes con los estudios de crecimiento y las mediciones de diámetro de células descritas anteriormente.

Como se muestra en la Figura 8, los resultados de un ensayo de proliferación celular también reflejan estas tres clases de T-ALL. La línea celular Ichikawa P-12, la línea celular HPB-ALL, y la línea celular TALL-1 fueron tratadas como se ha descrito anteriormente en la Figura 6. Las células se analizaron por FACS utilizando tinción con Ki-67 para marcar la proliferación (panel izquierdo). Un cambio en el pico de FACS a la izquierda indica menor tinción con Ki-67 y la disminución de la proliferación, y por el contrario, un cambio en el pico de FACS a la derecha indica una mayor tinción con Ki-67 y aumento de la proliferación. Basado en este ensayo de proliferación, HPB-ALL era sensible tanto a DAPT como anti-NRR1, TALL-1 era sensible a DAPT pero no anti-NRR1, y las células Ichikawa P-12 eran resistentes a ambos. Una vez más, estos resultados son consistentes con los de los otros ensayos descritos anteriormente, así como las mediciones de apoptosis mostradas en el panel derecho de la Figura 8. Ese panel muestra el recuento de células para células doblemente negativas de Anexina V/7-AAD (no-apoptóticas). Los bajos recuentos de células (es decir, el bajo número de células doblemente negativas de Anexina V/7-AAD (no-apoptóticas)) indican aumento de la apoptosis, que a su vez se correlacionan con la disminución de la proliferación en el panel de la izquierda.

B. Las Células TALL-1 Sensibles a GSI, resistentes a Anti-NRR1 son parcialmente sensibles a anti-NRR3

Como se ha descrito anteriormente, dos de las tres clases de T-ALL, representadas por HPB-ALL y TALL-1, ambas son sensibles al GSI pero difieren en que el primero es sensible a anti-NRR1, mientras que el segundo no lo es. Ya que la sensibilidad a GSI sugiere una función para uno o más receptores Notch, nos preguntamos si un receptor Notch, además de o en alternativa a Notch1 cumple una función en la resistencia de la última clase de T-ALL al anti-Notch1 NRR. Para resolver esta pregunta, las células CCRF-CEM, las HPB-ALL células, y las células TALL-1 fueron tratadas como se describió para las figuras 3-5, excepto que un antagonista de Notch3 específico se incluyó también a 10 µg/ml en un subconjunto de los tratamientos para probar si el crecimiento dependía de la señalización Notch3. El antagonista de Notch3 específico usado en estos estudios fue el anticuerpo monoclonal 256A-4 de Notch3 anti-humano de ratón, el aislamiento y la caracterización de los cuales se discute en la Publicación de Solicitud de Patente de Estados Unidos N° US 2008/0226621 A1. Por conveniencia, 256A-4 se denomina aquí como "anti-NRR3," y también se conoce como "α-N3" en las figuras.

Los resultados indican que el crecimiento de TALL-1 es parcialmente sensible a anti-NRR3 y aún más sensible a anti-NRR1 más anti-NRR3 (véase la figura 9A-9F), lo que sugiere que

la señalización a través de Notch3 así como Notch1 explica por qué la línea es sensible a DAPT pero no a anti-NRR1. Específicamente, casi el 83% de las células TALL-1 estaban en G0/G1 después del tratamiento con DAPT, en comparación con aproximadamente 53-54% para las células de control (tratadas con DMSO o α -gD). El tratamiento con anti-NRR3 resultó en aproximadamente 61% de las células en G0/G1, y la adición de anti-NRR1 aumentó esta cifra a aproximadamente 68%. En cambio, CCRF-CEM parece resistente a todos los tratamientos sometidos a prueba (Figura 10A-10F), cada uno mostrando desde aproximadamente 52-57% de las células en G0/G1. HBP-ALL parece sensible al tratamiento tanto con DAPT como anti-NRR1 (cada una mostrando aproximadamente 67% de las células en G0/G1), pero no al tratamiento anti-NRR3 (mostrando aproximadamente 37% de las células en G0/G1) (Figura 11A-11F).

Los resultados del experimento anterior en la Figura 9B-9F se vuelven a representar en la Figura 14. Los cultivos celulares TALL-1 comenzaron con aproximadamente 5×10^5 células/ml, y el eje y es el número de células/ml, en millones de células, después del tratamiento en las condiciones indicadas y como se ha descrito en la Figura 9B-9F. La Figura 14 muestra que cada anti-NRR1 y anti-NRR3 individualmente resultó en menores recuentos de células. Sin embargo, la combinación de anti-NRR1 y anti-NRR3 tuvo un efecto más pronunciado en la reducción de los recuentos de células, acercándose a los niveles observados con DAPT.

C. Notch3 es activado en Células Sensibles a Anti-NRR3

Para investigar el estado de activación de Notch3 en las tres clases de T-ALL, fue desarrollado un nuevo anticuerpo anti-Notch3 ICD que reconoce Notch3 ICD escindido (es decir, activado). Usando procedimientos estándar, los anticuerpos policlonales de conejo se levantaron contra un péptido correspondiente a la N-terminal del Notch3 ICD que se espera que resulte de la escisión de gamma-secretasa en la sitio S3. La secuencia peptídica utilizada fue: VMVARRKREHSTLW (SEQ ID NO: 4). El péptido se conjugó a BSA para las inmunizaciones. Los anticuerpos policlonales se purificaron en una columna de proteína A y luego se usaron para inmunotransferencia, como se muestra en la Figura 12. Para probar si el anticuerpo reconocía el Notch3 ICD nuclear, escindido, se usó la línea celular de cáncer de mama basal MDA-MB-468. Esta línea expresa los altos niveles de Notch3. Las células fueron tratadas con Jag1 inmovilizado (R&D Systems) (o Fc como control) para inducir la señalización Notch, y fracciones nucleares (N) y citoplasmáticas (C) fueron aisladas en los tiempos indicados luego de la inducción. Como control para examinar el nivel de Notch3 ICD presente sin inducción de Jag1, las células que no fueron inducidas fueron tratadas con DAPT (5 μ M), DMSO (excipiente para DAPT) o el inhibidor del proteasoma MG132 para estabilizar el Notch3 ICD, como se indica. El CREB y la tubulina se desempeñaron como marcadores de proteínas nucleares y citoplasmáticas, respectivamente. Los resultados de la Figura 12 muestran que el anticuerpo anti-Notch3 ICD

reconoce una banda del tamaño esperado que se localiza en el núcleo y está inducida por Jag1.

Este nuevo anticuerpo de anti-Notch3 ICD se utilizó luego para investigar el estado de activación de Notch3 en las tres clases de T-ALL. Como se muestra en la Figura 13, las fracciones nucleares de Ichikawa P12, HPB-ALL y las células TALL-1 se inmunotransfirieron con anti-Notch1 Val1744, un anticuerpo policlonal comercialmente disponible que reconoce Notch1 ICD activado, escindido (Cell Signaling Technologies) (panel superior), o con el anticuerpo anti-Notch3 ICD (α -N3 ICD Y935, panel inferior). Las células 3T3 que expresan Notch1 (3T3-N1) y MDA-MB-468 (MB468) fueron utilizadas como controles. De acuerdo con los estudios de inhibición del crecimiento descritos en las figuras anteriores, TALL-1 expresa altos niveles de Notch1 activado pero no el Notch3 activado (comparar senderos TALL-1 en los paneles inferiores y superiores, respectivamente). Además, la producción de Notch3 activado en TALL-1 podría ser bloqueada por DAPT pero no anti-NRR1 (panel inferior). Además, como se esperaba, las células HPB-ALL expresan altos niveles de Notch1 activado, que pueden ser bloqueadas por anticuerpo DAPT o anti-NRR1 (véase senderos HPB-ALL en el panel superior). En cuanto a los controles, el Notch1 activado es visto como una banda más ligera, de cambio ascendente en las células 3T3-N1 tratadas con Jagged (+jag) (panel superior). Además, el Notch3 activado se considera como una banda débil pero detectable en las células MDA-MB-468

81

tratadas con un anticuerpo agonista anti-Notch3 (A13, descrito en la Publicación de la Solicitud de Patente de los Estados Unidos US 2008/0118520 A1 como 256A-13) en ausencia de DAPT (panel inferior).

Aunque la invención precedente ha sido descrita con cierto detalle a modo de ilustración y ejemplo para propósitos de claridad de comprensión, las descripciones y ejemplos no deben interpretarse como limitantes del alcance de la invención. Las divulgaciones de toda la patente y la documentación científica citada aquí se incorporan expresamente en su totalidad como referencia.

REIVINDICACIONES:

1. Un método para el tratamiento de una leucemia de células T sensible al GSI que no responde a un antagonista de Notch1 específico, el método que comprende administrar a un paciente que tiene leucemia una cantidad eficaz de un antagonista de Notch3 específico.
2. El método de la reivindicación 1, caracterizado porque la leucemia de células T es una leucemia linfoblástica.
3. El método de la reivindicación 2, caracterizado porque la leucemia de células T es T-ALL.
4. El método de la reivindicación 1, caracterizado porque el antagonista de Notch3 específico es un anticuerpo antagonista anti-Notch3.
5. El método de la reivindicación 4, caracterizado porque el anticuerpo antagonista anti-Notch3 es un anticuerpo de anti-Notch3 NRR.
6. El método de la reivindicación 5, caracterizado porque el anticuerpo de anti-Notch3 NRR se une a los dominios LNR-A y HD-C de Notch3 NRR.
7. El método de la reivindicación 5, caracterizado porque el anticuerpo de anti-Notch3 NRR es una forma humanizada de anticuerpo 256A-4 o 256A-8.

8. El método de la reivindicación 5, caracterizado porque el anticuerpo de anti-Notch3 NRR comprende las CDR de la región variable de la cadena pesada y ligera del anticuerpo 256A-4 o 256A-8.
9. El método de la reivindicación 4, caracterizado porque el anticuerpo antagonista anti-Notch3 es un anticuerpo anti-Notch3 que se une a una o más repeticiones similares a EGF de Notch3.
10. El método de la reivindicación 1, que comprende además la administración de una cantidad eficaz de un antagonista de Notch1 específico.
11. El método de la reivindicación 10, caracterizado porque el antagonista de Notch1 específico es un anticuerpo antagonista anti-Notch1.
12. El método de la reivindicación 11, caracterizado porque el anticuerpo antagonista anti-Notch1 es un anticuerpo de anti-Notch1 NRR.
13. El método de la reivindicación 12, caracterizado porque el anticuerpo de anti-Notch1 NRR se une a los dominios LNR-A, LNR-B, y HD-C de Notch1 NRR.
14. El método de la reivindicación 12, caracterizado porque el anticuerpo de anti-Notch1 NRR se selecciona del Anticuerpo A, A-1, A-2 y A-3.

15. El método de la reivindicación 12, caracterizado porque el anticuerpo de anti-Notch1 NRR comprende las CDR de la región variable de la cadena pesada y ligera de un anticuerpo seleccionado a partir del anticuerpo A, A-1, A-2 y A-3.
16. El método de la reivindicación 11, caracterizado porque el anticuerpo antagonista anti-Notch1 es un anticuerpo anti-Notch1 que se une a una o más repeticiones similares a EGF de Notch1.
17. Un anticuerpo que se une a Notch3 ICD activado.
18. El anticuerpo de la reivindicación 17, caracterizado porque el anticuerpo se une al péptido de SEQ ID NO: 4.
19. El anticuerpo de la reivindicación 17, caracterizado porque el anticuerpo es policlonal.
20. El anticuerpo de la reivindicación 17, caracterizado porque el anticuerpo es monoclonal.
21. Un método para la identificación de un cáncer que es adecuado para el tratamiento con un antagonista de Notch3, el método que comprende poner en contacto una muestra del cáncer con el anticuerpo de la reivindicación 17, y determinar si los niveles significativamente elevados de Notch3 activado están presentes en la muestra, caracterizado porque la presencia de niveles significativamente elevados de Notch3 activado indica que

el cáncer es adecuado para el tratamiento con un antagonista de Notch3.

22. El método de la reivindicación 21, caracterizado porque el cáncer es sensible al GSI.

RESUMEN DE LA DIVULGACIÓN

La presente invención se refiere a métodos para el tratamiento del cáncer en general y leucemia en particular, utilizando antagonistas de Notch1 y Notch3 solos o en combinación. También se proporcionan composiciones y métodos para el tratamiento y diagnóstico de tipos de cáncer asociados a Notch.

P4371R1 WO

1 / 25

Identidad del 90.7% en superposición de 2556 residuos; Puntaje: 13215.0; frecuencia de vacío: 1.0%

Humano	1	MPPLLAPLLCLALLPALAARGPRCSQPGETCLNGGKCEAANGTEACVCGGAFVGPQCQDP
Ratón	1	MPRLLTPLLCLTLLPALAARGLRCSQPSGTCLNGGRCEVASGTEACVCSGAFVGPQRCQDS

		Signal Peptide EGF1
Humano	61	NPCLSTPCKNAGTCHVVDHGGTVDYACSCPLGFSGPLCLTPLDNACLTPCRNNGGTCDLL
Ratón	61	NPCLSTPCKNAGTCHVVDHGGTVDYACSCPLGFSGPLCLTPLDNACLTPCRNNGGTCDLL

		EGF2 EGF3
Humano	121	TLTEYKCRCPPGWSGKSCQQAADPCASNPCANGGQCLPFESSYICRCPGPHGPTCRQDVN
Ratón	121	TLTEYKCRCPPGWSGKSCQQAADPCASNPCANGGQCLPFESSYICRCPGPHGPTCRQDVN

		EGF4
Humano	181	ECGQKPGLCRHGGTCHNEVGSYRCVCRATHGTGPNCRPYVPCSPSPCQNGGTCRPTGDVT
Ratón	181	ECSQNPGLCRHGGTCHNEIGSYRCACRATHGTGPHCELPHYVPCSPSPCQNGGTCRPTGDTT

		EGF5 EGF6
Humano	241	HECACLPGFTGQNCENIDDCPGNNCKNGGACVDGVNTYNCRCPPPEWTGQYCTEDVDECQ
Ratón	241	HECACLPGFAGQNCENVDDCPGNNCKNGGACVDGVNTYNCRCPPPEWTGQYCTEDVDECQ

		EGF7 EGF8
Humano	301	LMPNACQNGGTCHNTHGGYNCVCVNGWTGEDCSENIDDCASAACPHGATCHDRVASFYCE
Ratón	301	LMPNACQNGGTCHNTHGGYNCVCVNGWTGEDCSENIDDCASAACFQGATCHDRVASFYCE

		EGF9
Humano	361	CPHGRTGLLCHLNDACISNPCNEGSNCDTNPVNGKAICTCPSGYTGPAQSQDVDECSLGA
Ratón	361	CPHGRTGLLCHLNDACISNPCNEGSNCDTNPVNGKAICTCPSGYTGPAQSQDVDECALGA

		EGF10 EGF11
Humano	421	NPCEHAGKCINTLGSFECQCLQGYTGPRCEIDVNECVSNPCQNDATCLDQIGEFQICMP
Ratón	421	NPCEHAGKCLNTLGSFECQCLQGYTGPRCEIDVNECISNPCQNDATCLDQIGEFQICMP

		EGF12
Humano	481	GYEGVHCEVNTDECASSPCLHNGRCLDKINEFQCECPTGFTGHLQYDVDECASTPCKNG
Ratón	481	GYEGVYCEINTDECASSPCLHNGHGMCKINEFQCQCPKGFNGHLQYDVDECASTPCKNG

		EGF13 EGF14
Humano	541	AKCLDGPNTYTCVCTEGYTGTHCEVDIDECDDPCHYGSKDGVATFTCLCRPGYTGHHHC
Ratón	541	AKCLDGPNTYTCVCTEGYTGTHCEVDIDECDDPCHYGSKDGVATFTCLCPGYTGHHHC

		EGF15
Humano	601	ETNINECSSQPCRHHGGTCQDRDNAYLCFLKGTGPNCEINLDDCASSPCDSGTCLDKID
Ratón	601	ETNINECHSQPCRHHGGTCQDRDNSYLCLKGTGPNCEINLDDCASNPCDSGTCLDKID

		EGF16 EGF17

FIG. 1A

P4371R1 WO

2 / 25

Humano	661	GYECACEPGYTGSMCNINIDECAGNPCHNGGTCEGTINGFTCRCPGEYHDP TCLSEVNEC	
Ratón	661	GYECACEPGYTGSMCNVNIDECAGSPCHNGGTCEGDIAGFTCRCPGEYHDP TCLSEVNEC	
		*****	*****
		EGF18	EGF19
Humano	721	NSNPCVHGACRDSLNGYKCDGPGWSGTNCDINNNECESNPCVNGGTCKDMTSGYVCTCR	
Ratón	721	NSNPCIHGACRDGLNGYKCDGPGWSGTNCDINNNECESNPCVNGGTCKDMTSGYVCTCR	
		*****	*****
		EGF20	
Humano	781	EGFSGPNCQTNINECASNPCLNQGTCIDDVAGYKCNCLLPYTGATCEVVLAPCAPSPCRN	
Ratón	781	EGFSGPNCQTNINECASNPCLNQGTCIDDVAGYKCNCLLPYTGATCEVVLAPCATSPCKN	
		*****	*****
		EGF21	EGF22
Humano	841	GGECRQSEDIYESFSCVCPTGWQGGTCEVDINECVLSPCRHGASCQNTHGGRCHCQAGYS	
Ratón	841	SGVCKESEDYESFSCVCPTGWQGGTCEVDINECVKSPCRHGASCQNTNGSYRCLCQAGYT	
		* * *	* * *
		EGF23	
Humano	901	GRNCETDIDDCRPNPCHNGGSCTDGINAFCDCLPGFRGTFCBEDINECASDPCRNGANC	
Ratón	901	GRNCESDIDDCRPNPCHNGGSCTDGINAFCDCLPGFQGAFCBEDINECASNPCQNGANC	
		*****	*****
		EG24	EGF25
Humano	961	TDCVDSYTC TCPAGFSGIHCENNTPDCTESSCFNGGTCVDGINSFTCLCPPGFTGSYCQH	
Ratón	961	TDCVDSYTC CPVGFNGIHCENNTPDCTESSCFNGGTCVDGINSFTCLCPPGFTGSYCQY	
		*****	*****
		EGF26	
Humano	1021	DVNECDSQPCLHGGTCQDGGCSYRCTCPQGYTGPNQNLVHWCDSSPCKNGGKCWQTHTQ	
Ratón	1021	DVNECDSRPLHGGTCQDSYGYKCTCPQGYTGLNQNLRVWCD SAPCKNGGRCWQNTQ	
		*****	*****
		EGF27	EGF28
Humano	1081	YRCECPSGWTGLYCDVPSVSCEVAAQRQGV DVARLCQHGGLCVDAGNTHHCRCQAGYTGS	
Ratón	1081	YHCECRSGWTGVNCDVLSVSCEVAAQKRGI DVTLLCQHGGLCVDEGDKHYCHCQAGYTGS	
		* * *	* * *
		EGF29	
Humano	1141	YCEDLVDECSPPCQNGATCTDYLGGSCKCVAGYHGVNCSEI IDECLSHPCQNGGTCLD	
Ratón	1141	YCEDEVDECSNP CQNGATCTDYLGFSCKCVAGYHGSNCSEI INECLSQPCQNGGTCLD	
		*****	*****
		EGF30	EGF31
Humano	1201	LPNTYKCS CPRGTQGVHCEINVDDCNPPVDPVSRSPKCFNNGTCVDQVGGYSCTCPPGFV	
Ratón	1201	LINSYKCS CPRGTQGVHCEINVDDCHPPLDPASRSPKCFNNGTCVDQVGGYTCTCPPGFV	
		* * *	* * *
		EGF32	
Humano	1261	GERCEGDVNECLSNPCDARGTQNCVQRVND FHCERAGHTGRRCESVINGCKGKPCCKNGG	
Ratón	1261	GERCEGDVNECLSNPCDPRGTQNCVQRVND FHCERAGHTGRRCESVINGCRGKPCCKNGG	
		*****	*****
		EGF33	EGF34

FIG. 1B

P4371R1 WO

3 / 25

Humano	1321	TCAVASNTARGFICKCPAGFEGATCENDARTCGSLRCLNGGTCISGPRSPTCLCLGPFTG
Ratón	1321	VCAVASNTARGFICRCPAGFEGATCENDARTCGSLRCLNGGTCISGPRSPTCLCLGSFTG

		EGF35
Humano	1381	PECQFPASSPCLGGNPCYNQGTCEPTSESPFYRCLCPAKFNGLLCHILDYSFGGGAGRDI
Ratón	1381	PECQFPASSPCVGSNPCYNQGTCEPTSENPFYRCLCPAKFNGLLCHILDYSFTGGAGRDI

		EGF36
Humano	1441	PPPLIEEACELPECQEDAGNKVCSLQCNNHACGWDGGDCSLNFNDPWKNCTQSLQCWKYF
Ratón	1441	PPPQIEEACELPECQVDAGNKVCNLQCNNHACGWDGGDCSLNFNDPWKNCTQSLQCWKYF

		LNR_A LNR_B
Humano	1501	SDGHCDSDQNSAGCLFDGFDGQRAEGQCNPPLYDQYCKDHFSDGHCDQGCNSAECEWDGLD
Ratón	1501	SDGHCDSDQNSAGCLFDGFDGQLEGCNPPLYDQYCKDHFSDGHCDQGCNSAECEWDGLD

		LNR_C
Humano	1561	CAEHVPERLAAGTLVVVVLMPPEQLRNSSFHFLRELSRVLHTNVVFKRDAHQQQMIFPYY
Ratón	1561	CAEHVPERLAAGTLVLVLLPPDQLRNNSFHFLRELSHVLHTNVVFKRDAHQQQMIFPYY

		HD-N
Humano	1621	GREEELRKHPKRAAEGWAAPDALGQVKASLLPGGSEGGRRRRELDPMVVRGSIVYLEI
Ratón	1621	GHEEELRKHPIKRSTVGWAT-----SSLLPCTS-GGRQRRELDPMIRGSIVYLEI

		S1 HD-C
Humano	1681	DNRQCVQASSQCFQSATDVA AFLGALASLGS LNIPYKIEAVQSETVEPPPPAQLHFMYYA
Ratón	1671	DNRQCVQSSSQCFQSATDVA AFLGALASLGS LNIPYKIEAVKSEPVEPPLPSQLHLMYYA

		S2 TM
Humano	1741	AAAFVLLFFVGCGLLSRKRRRQHGLWFPPEGFKVSEASKKKRREPLGEDSVGLKPLKNA
Ratón	1731	AAAFVLLFFVGCGLLSRKRRRQHGLWFPPEGFKVSEASKKKRREPLGEDSVGLKPLKNA

Humano	1801	SDGALMDDNQNEWGDEDELETKKFRFEPPVVLPLDQTDHRQWTQOHLDAADLRMSAMAP
Ratón	1791	SDGALMDDNQNEWGDEDELETKKFRFEPPVVLPLSDQTDHRQWTQOHLDAADLRMSAMAP

Humano	1861	TPPQGEVDADCMDVNVRGPDGFTPLMIASCSGGGLETCNSEEEEDAPAVISDFIYQGASL
Ratón	1851	TPPQGEVDADCMDVNVRGPDGFTPLMIASCSGGGLETCNSEEEEDAPAVISDFIYQGASL

Humano	1921	HNQTDRTGETALHLAARYSRSDAAKRLLEASADANIQDNMGRTPHAAVSADAQGVFQIL
Ratón	1911	HNQTDRTGETALHLAARYSRSDAAKRLLEASADANIQDNMGRTPHAAVSADAQGVFQIL

FIG. 1C

P4371R1 WO

4 / 25

Humano	1981	IRNRATDLDARMHDGTTPLILAARLAVEGMLEDLINSHADVNAVDDLGKSALHWAAAVNN
Ratón	1971	LRNRATDLDARMHDGTTPLILAARLAVEGMLEDLINSHADVNAVDDLGKSALHWAAAVNN *****
Humano	2041	VDAAVVLLKNGANKDMQNNREETPLFLAAREGSYETAKVLLDHFANRDI TDHMDRLPRDI
Ratón	2031	VDAAVVLLKNGANKDMQNNKEETPLFLAAREGSYETAKVLLDHFANRDI TDHMDRLPRDI *****
Humano	2101	AQERMHHDIVRLLDEYNLVRSPQLHGAPLGGTPTLSPPLCSPNGYLGSLKPGVQGKKVRK
Ratón	2091	AQERMHHDIVRLLDEYNLVRSPQLHG TALGGTPTLSPTLCS PNGYLGNLKSATQGGKARK *****
Humano	2161	PSSKGLACGSKEAKDLKARRKKSQDGKGCLLDSSGMLSPVDSLES PHGYLSDVASPPLLP
Ratón	2151	PSTKGLACGSKEAKDLKARRKKSQDGKGCLLDSSSMLSPVDSLES PHGYLSDVASPPLLP ** *****
Humano	2221	SPFQQSPSVPLNHLPGMPDTHLGIGHLNVAAKPEMAALGGGRLAFETGPPRLSHLPVAS
Ratón	2211	SPFQQSPSMPLSHLPMPDTHLGISHLNVAAKPEMAALAGGSRLAFEP PPPRLSHLPVAS ***** ** *****
Humano	2281	GTSTVLGSSSGGALNFTVGGSTSLNGQCEWLSRLQSGMVPNQYNPLRGSVAPGLSTQAP
Ratón	2271	SASTVLSTNGTGAMNFTVGAPASLNGQCEWLPRLQNGMVP SQYNPLRPGVTPGTLSTQAA **** ** *****
Humano	2341	SLQHGMVGPLHSSLAASALSQMSYQGLPSTRLATQPHLVQTQQVQPQNLQMQQQNLQPA
Ratón	2331	GLQHSMMGPLHSSLTNTLSPII-YQGLEPNTRLATQPHLVQTQQVQPQNLQLQPQNLQP- *** * ***** ** *****
Humano	2401	NIQQQQSLQPPPPPPQPHLGVSSAASGHLGRSFLSGEPSQADVQPLGPSSLAVHTILPQE
Ratón	2389	-----PSQPHLSVSSAANGHLGRSFLSGEPSQADVQPLGPSSLVHTILPQE * **** *****
Humano	2461	SPALPTSLPSSLVPPVTAAQFLTPPSQHSYSS-PVDNTPSHQLQVPEHPFLTPSPESPDQ
Ratón	2436	SQALPTSLPSSMVPMTTQTFLTPPSQHSYSSSPVDNTPSHQLQVPEHPFLTPSPESPDQ * ***** ** *
Humano	2520	WSSSSPHSNVSDWSEGVSSPPTSMQSQIARIPEAFK
Ratón	2496	WSSSSPHSNISDWSEGISSPPTTMP SQITHIPEAFK ***** *****

FIG. 1D

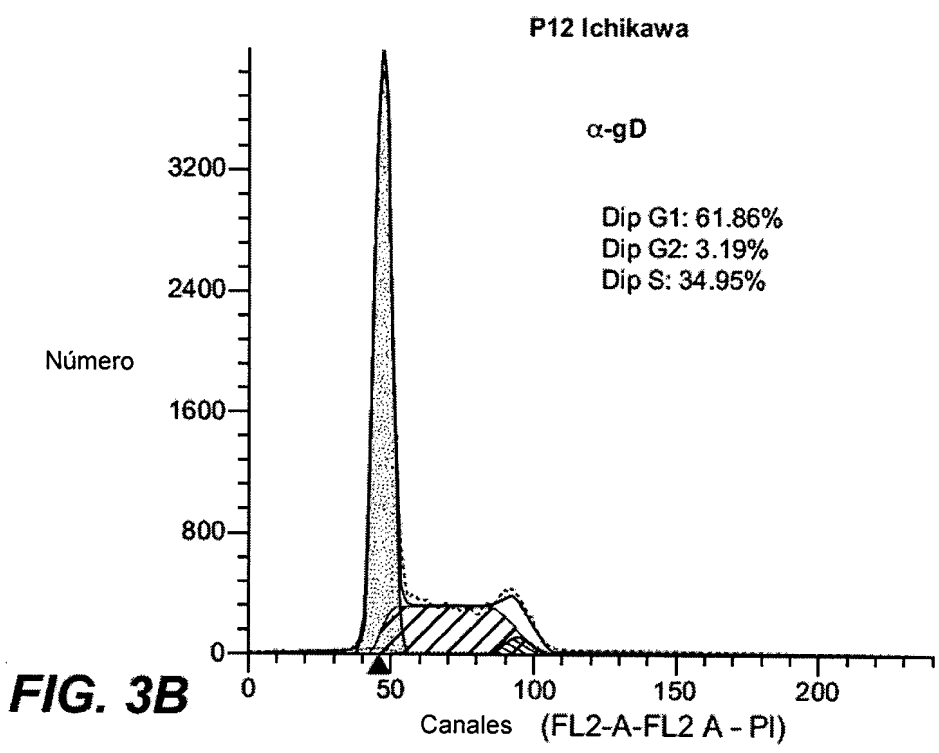
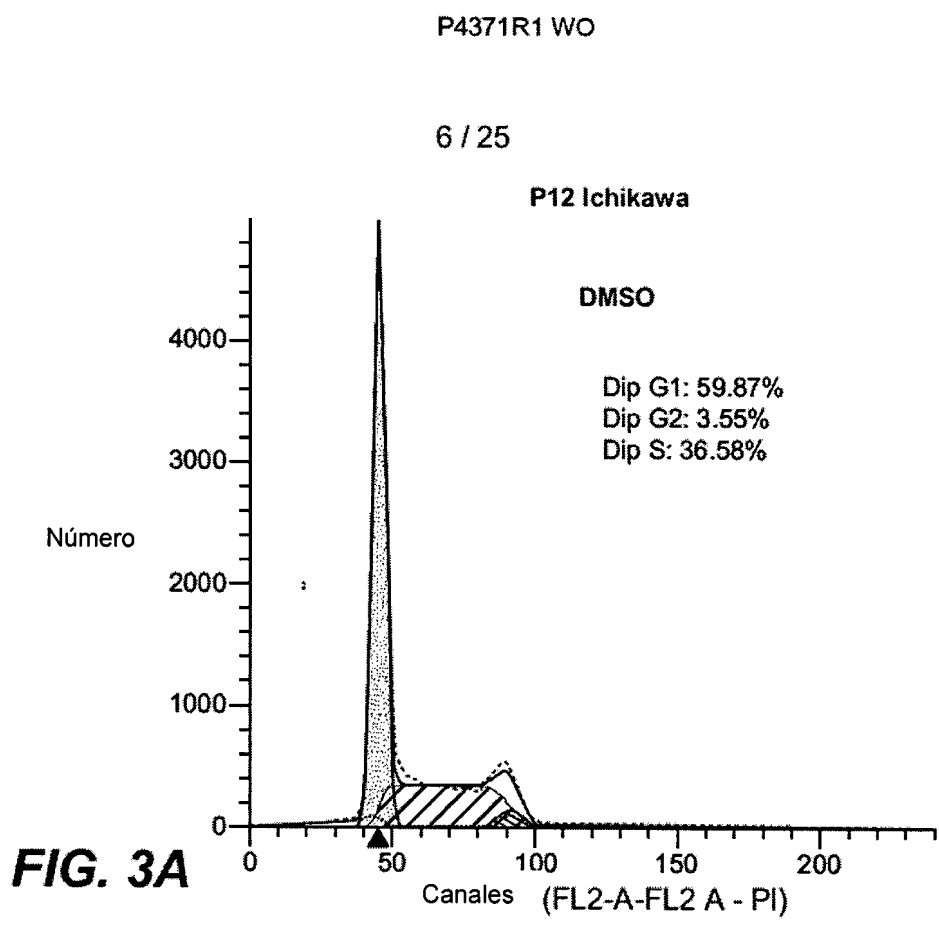
P4371R1 WO

5 / 25

Secuencia de Aminoácidos de Notch 3 Humano (NP_000426)

1 MGPARGRRR RRRPMSPPPP PPPVRALPLL LLLAGPGAAA PPCLDGSPCA NGGRCTQLPS
61 REAACLCPPG WVGERCOLED PCHSGPCAGR GVCOSVAVG TARFSCRCPR GFRGPDCLP
121 DPCLSSPCAH GARCSVGPDP RFLCSCPPGY OGRSCRSDDV ECRVGEPCRH GGTCLNTPGS
181 FRCQCPAGYT GPLCENPAVP CAPSPCRNGG TCROSGDLTY DCACLPGFEG QNCEVNVDLC
241 PGHRCLNGGT CVDGVNTYNC QCPPEWTGQF CTEDVDECQL QPNACHNGGT CFNTLGGHSC
301 VCVNGWTGES CSQNIIDCAT AVCFHGATCH DRVASFYCAC PMGKTGLLCH LDDACVSNPC
361 HEDAICDTNP VNGRAICTCP PGFTGGACDQ DVDECSIGAN PCEHLGRCVN TQGSFLCQCG
421 RGYTGPRCET DVNECLSGPC RNOATCLDRI GOFTCIOMAG FTGTYCEVDI DECOSSPCVN
481 GGVCCKDRVNG FSTCTPSGFS GSTCQLDVDE CASTPCRNGA KCVDQPDGYE CRCAEGFEGT
541 LCDRNVDLCS PDPCHHGRCV DGIASFSCAC APGYTGTRCE SQVDECRSQ CRHGGKCLDL
601 VDKYLCRCPS GTTGVNCEVN IDDCASNPT FGVCRDGINR YDCVCQPGFT GPLCNVEINE
661 CASSPCGEGG SCVDGENGFR CLCPPGSLPP LCLPPSHPCA HEPCHGICY DAPGGFRVC
721 EPGWSPGRCS QSLARDACES QPCRAGGTC SDGMGFHCTC PPGVQGRQCE LLSPTCPNPC
781 EHGGRCESAP GQLPVCSCPQ GWQGRQOQD VDECAGPAPC GPHGICTNLA GSFSCCTHGG
841 YTGPSCDQDI NDCDPNPCLN GGSCODGVGS FSCSCLPGFA GPRCARDVDE CLSNPCGPGT
901 CTDHVASFTC TCPPGYGGFH CEQDLPCDSP SSCFNGGTCV DGVNSFSLC RPYGTGAHQ
961 HEADPCLSRP CLHGGVCSAA HPGFRCTCLE SFTGPQCOTL VDWCSPQPC NGGRCVQTGA
1021 YCLCPPGWSG RLCDIRSLPC REAAAIQVLR LEQLCQAGGQ CVDEDSHYC VCPEGRGSH
1081 CEQEVDPCLA QPCQHGCTCR GYMGGYCEC LPGAINGDCE DDVDECASQ CQHGSGIDL
1141 VARYLCSCPP GTLGLVCEIN EDDCGPGPL DSGPRCLHNG TCVDLVGGFR CTCPPGYTGL
1201 RCEADINECR SGACHAAHTR DCLQDPGGGF RCLCHAGFSG PRCQTVLSPC ESOPCOHGGQ
1261 CRPSPGPGGG LFTTCHCAQP FWGPRCERVA RSCRELQCPV GVPCQOTPRG PRCACPPGLS
1321 GPSCRSFPGS PPGASNASCA AAPCLHGGSC RPAPLAPFFR CACAQGTGP RCEAPAAAE
1381 VSEEPRCFRA ACQAKRGDQR CDRECNTPG GWDGGDCSLV VGDPWRQCEA LQCRLEFNS
1441 RCDPACSSPA CLYDNFDCHA GGRERTCNPV YEKYCADHFA DGRCDQGCNT EECGWDGLDC
1501 ASEVPALLAR GVLVLTVLLP PEELLRSSAD FLQRLSAILR TSLRFRDLAH GQAMVFPYHR
1561 PSPGSEPRAR RELAPEVIGS VVMLEIDNRL CLQSPENDHC FPDAQSAADY LGALSAVERL
1621 DFPYPLRDVR GEPLPEPEPS VPLLPLLVAG AVLLLVILVL GVMVARRKRE HSTLWFPEGF
1681 SLHKDVASGH KGRREPVGQD ALGMKNMAKG ESLMGEVATD WMDTECPKAK RLVKEEPPMG
1741 AEEAVDCRQW TQHHLVAAID RVAPAMALTP PQGDADADGM DVNVRGPDGF TPLMLASFCA
1801 GALEPMPTEE DEADDTSASI ISDLICQGAQ LGARTDRTGE TALHLAARYA RADAARKLLD
1861 AGADTNAQDH SGRTPHHTAV TADAQGVFQI LIRNRSTDLD ARMADGSTAL ILAARLAVEG
1921 MVEELIASHA DVNAVDELK SALHWAAVN NVEATLALLK NGANKDMQDS KEETPLFLAA
1981 REGSYEAAKL LLDHFANREI TDHLDRLPD VAQERLHQDI VRLDQPSGP RSPGPHGLG
2041 PLLCPPGAFL PGLKAAQSGS KKSRRPPGKA GLGPQGPGRG GKKLTLACPG PLADSSVTLS
2101 PVDSLSPRP FGGPPASPGG FPLEGFYAAA TATAVSLAQL GPGPRAGLGR QPPGCVLSL
2161 GLLNPVAVPL DWARLPPAP PGPSFLLPLA PGPQLNPGT PVSPQERPPP YLAVPGHGE
2221 YPVAGAHSSP PKARFLRVPS EHPYLTPSE SPEHWASPS PSLSDWSEST PSPATATGAM
2281 ATTTGALPAQ PLPLSVPSL AQAQTQLGPQ PEVTPKRQVL A (SEQ ID NO 3)

FIG. 2



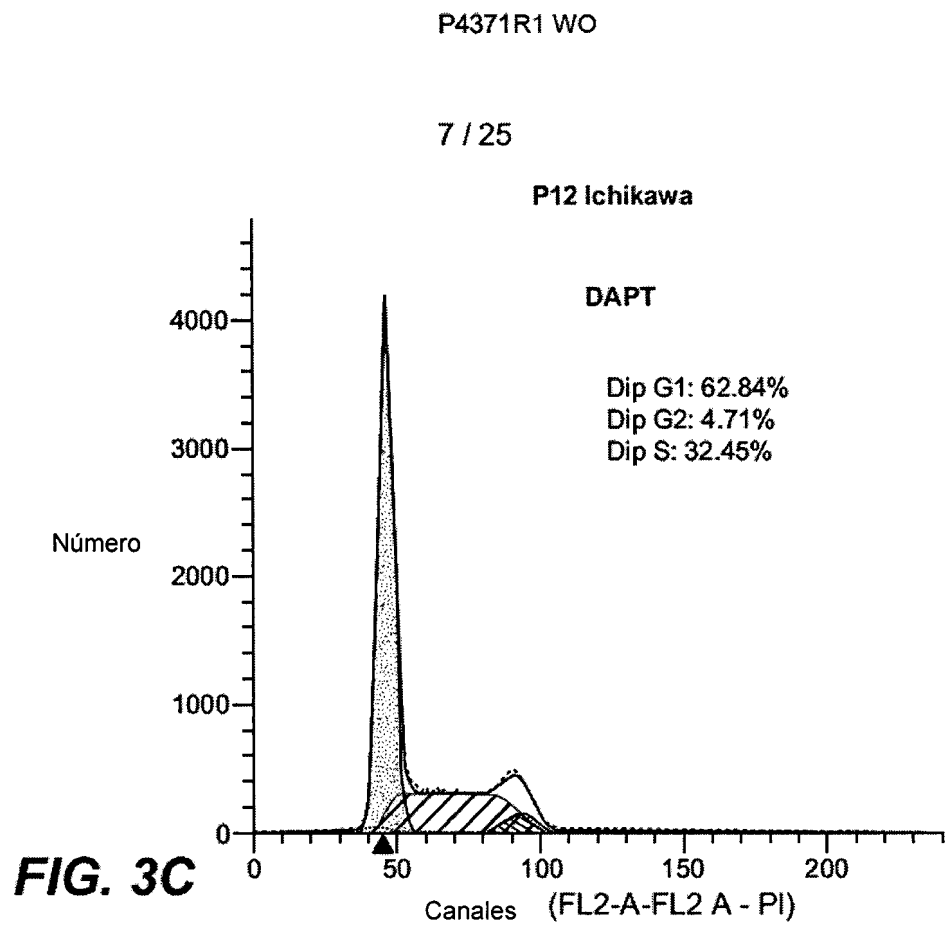


FIG. 3C

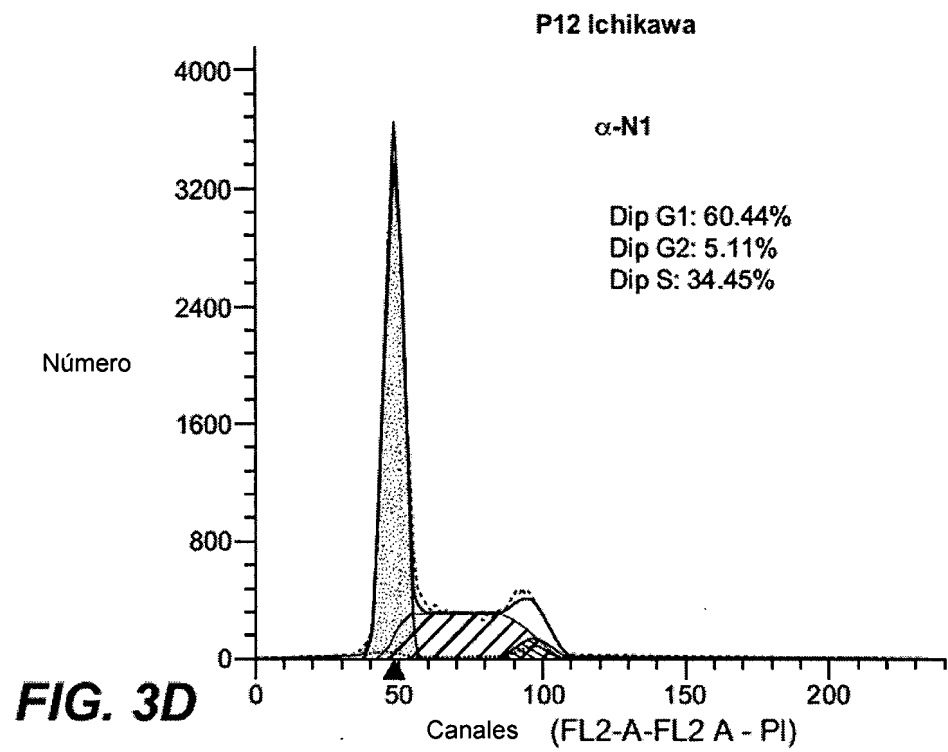
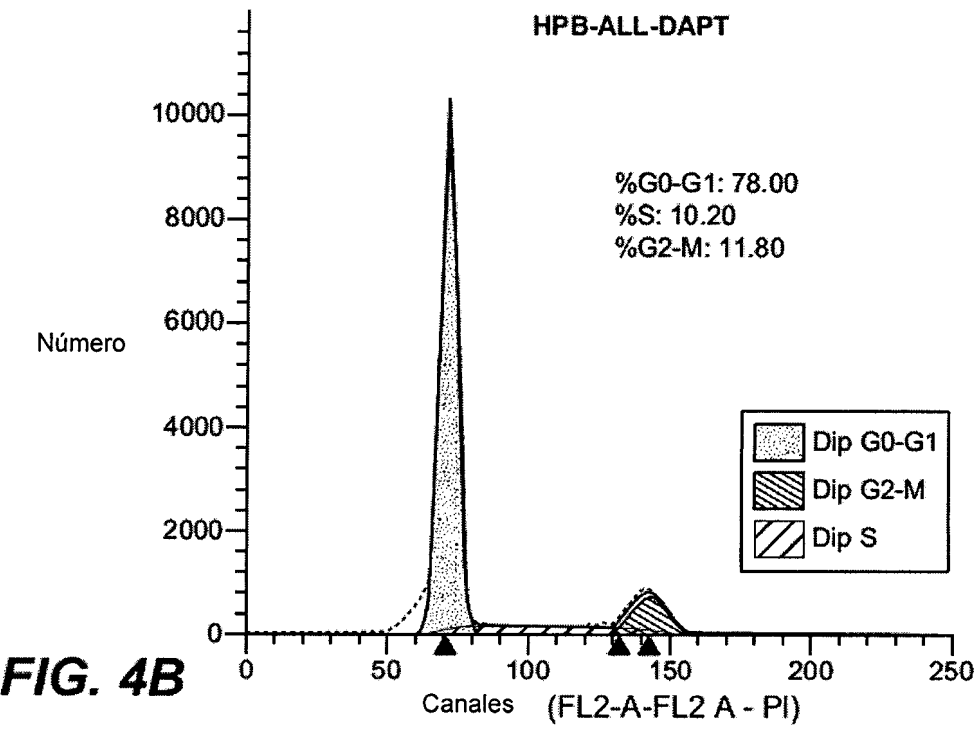
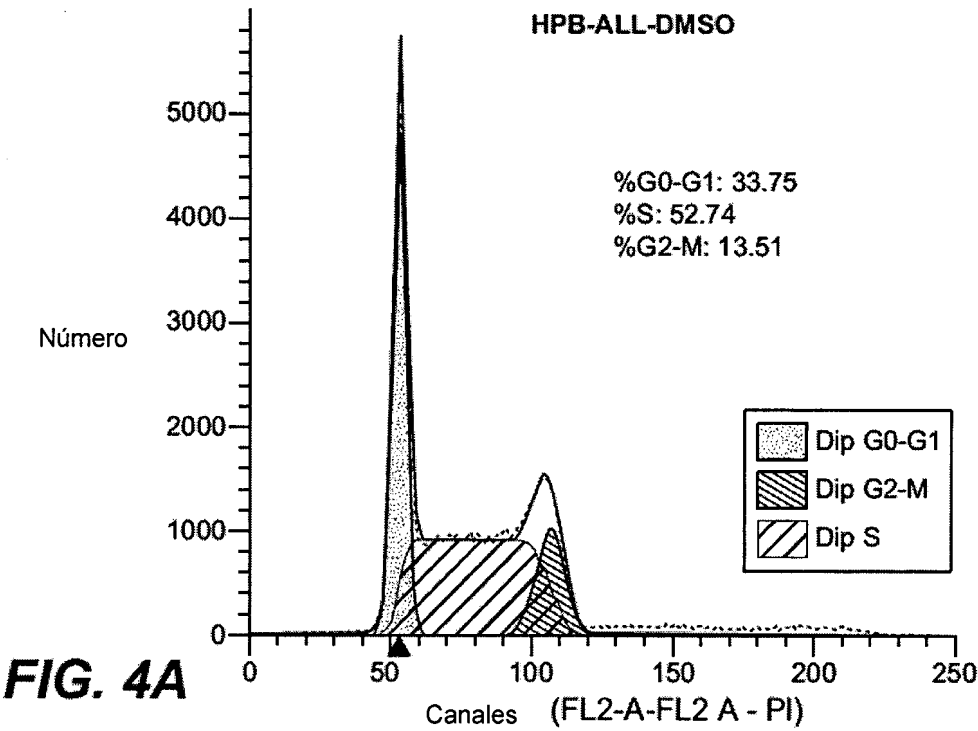


FIG. 3D

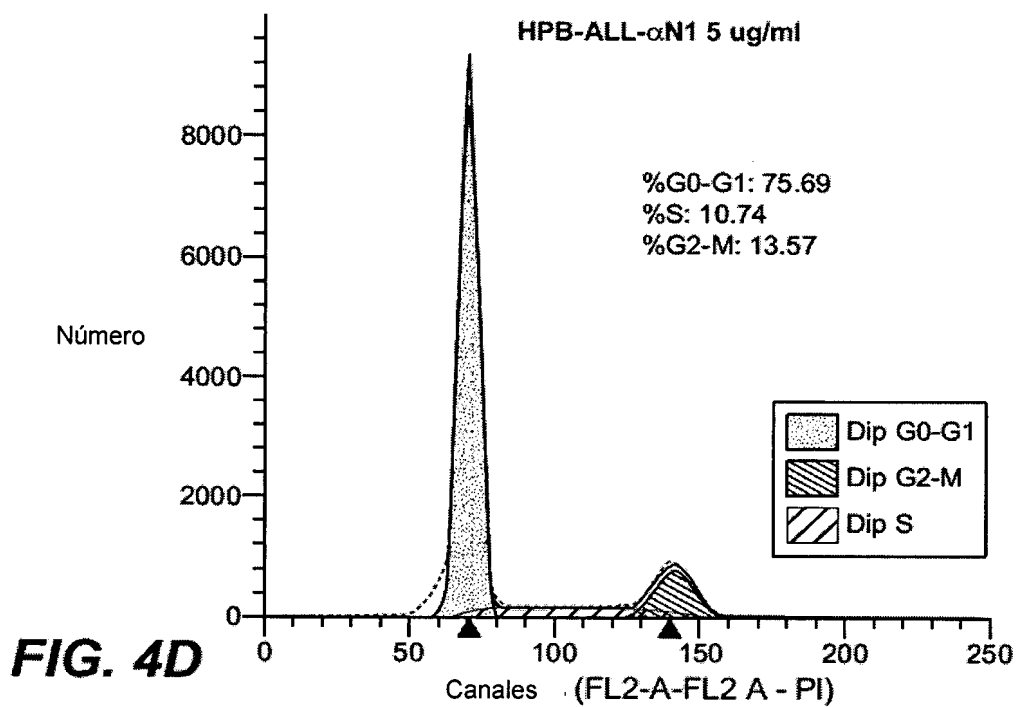
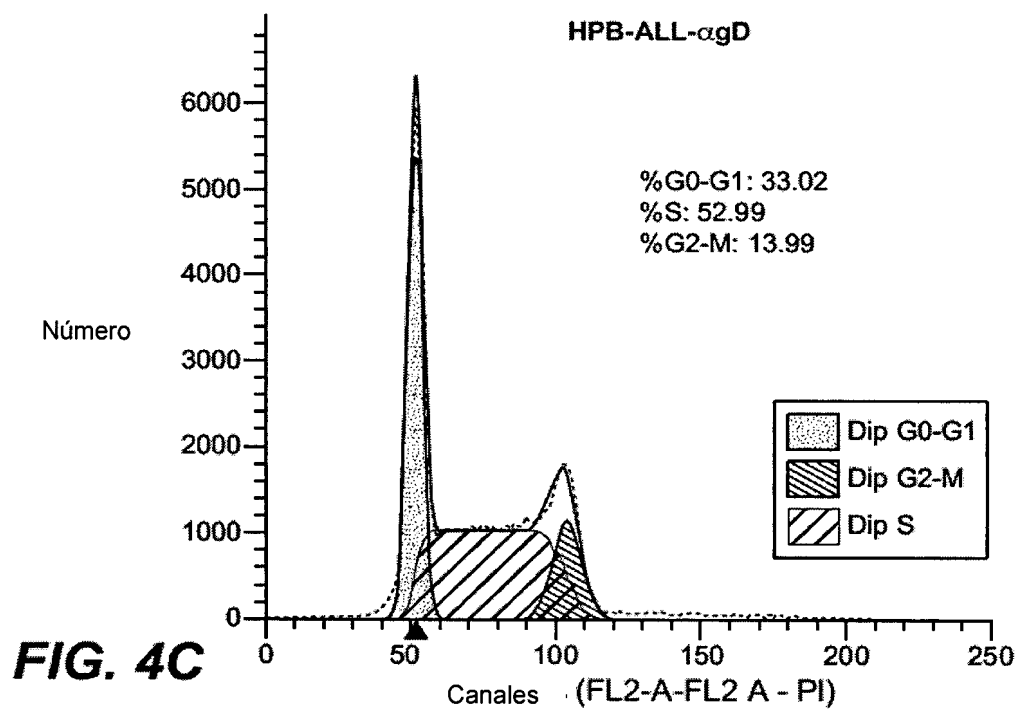
P4371R1 WO

8 / 25



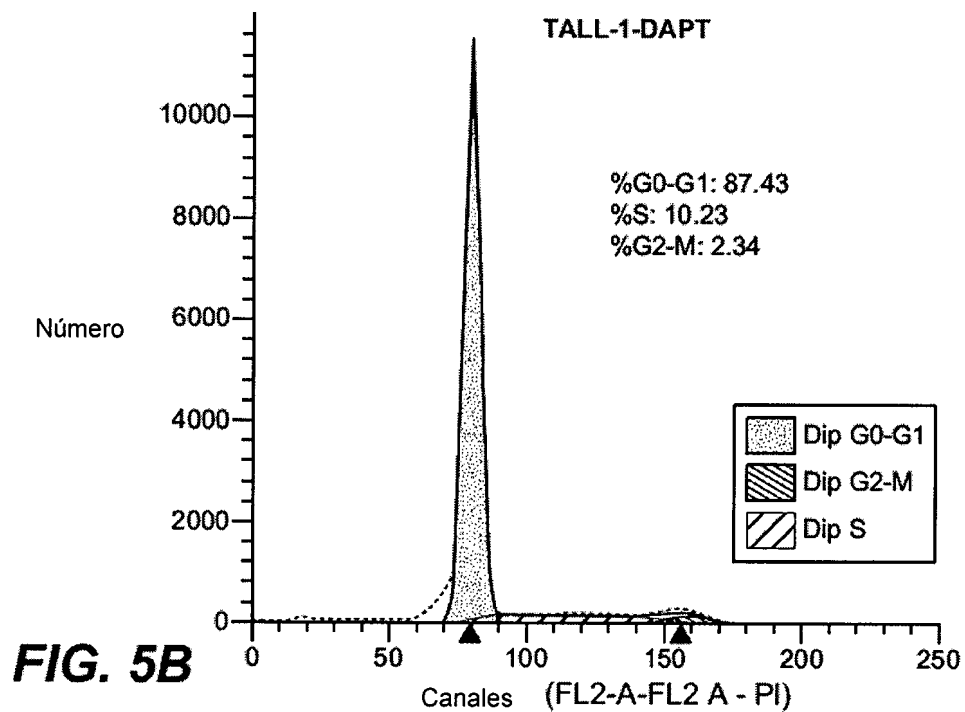
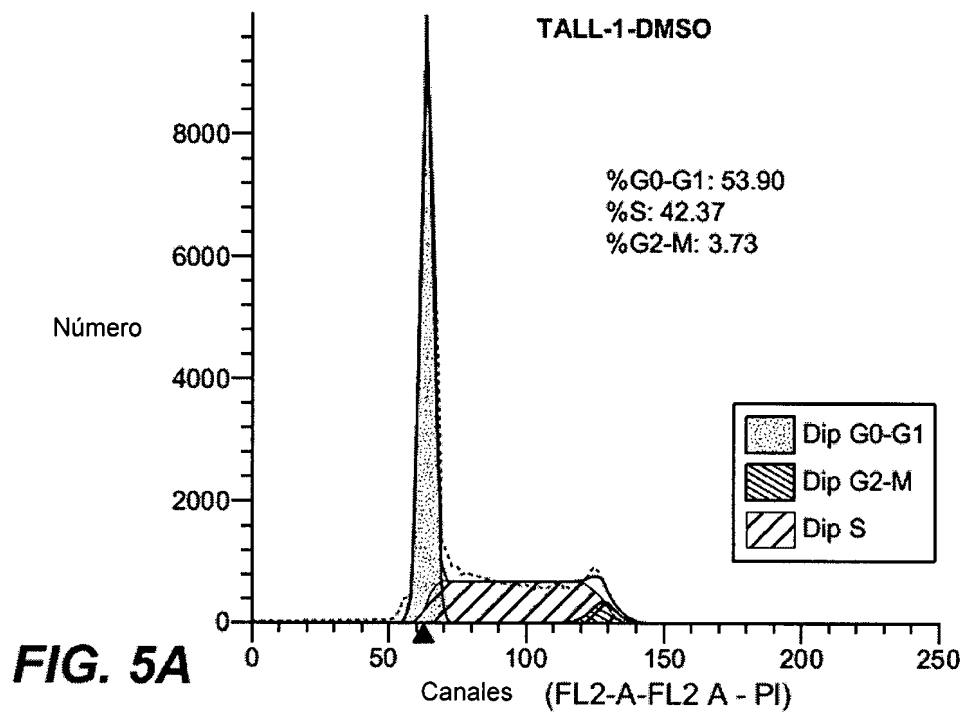
P4371R1 WO

9 / 25



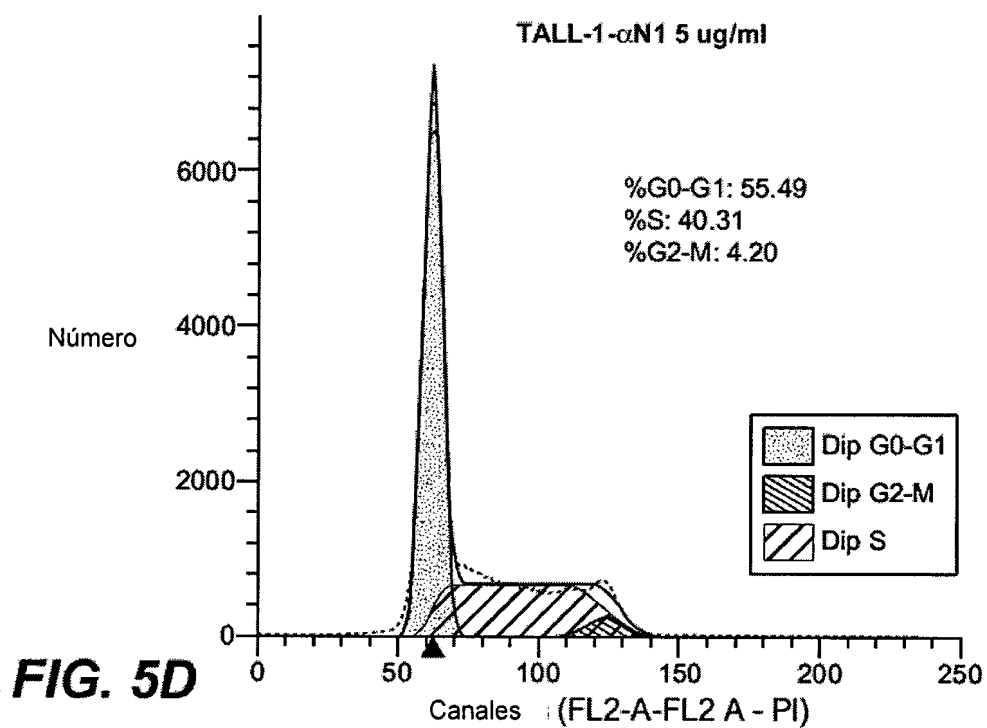
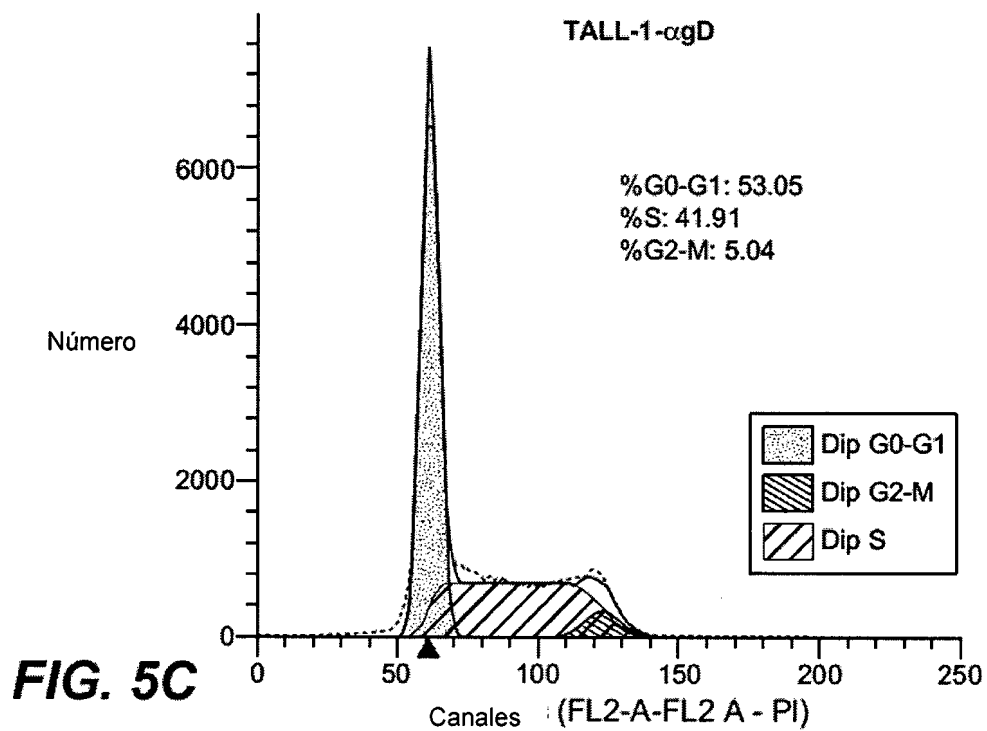
P4371R1 WO

10 / 25



P4371R1 WO

11 / 25



P4371R1 WO

12 / 25

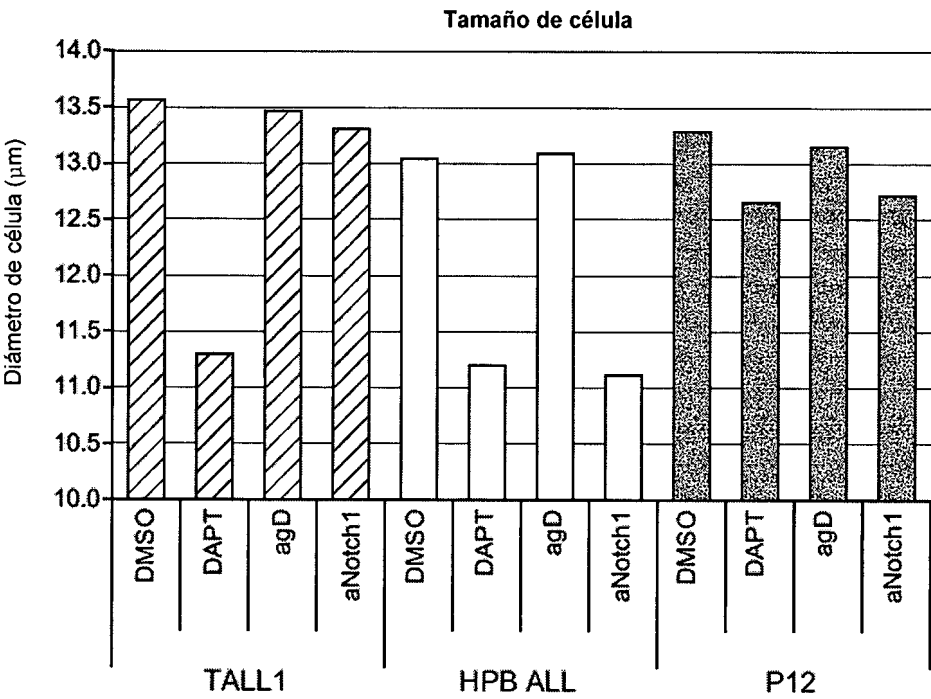


FIG. 6

P4371R1 WO

13 / 25

Tinción con AnexinaV 7-AAD

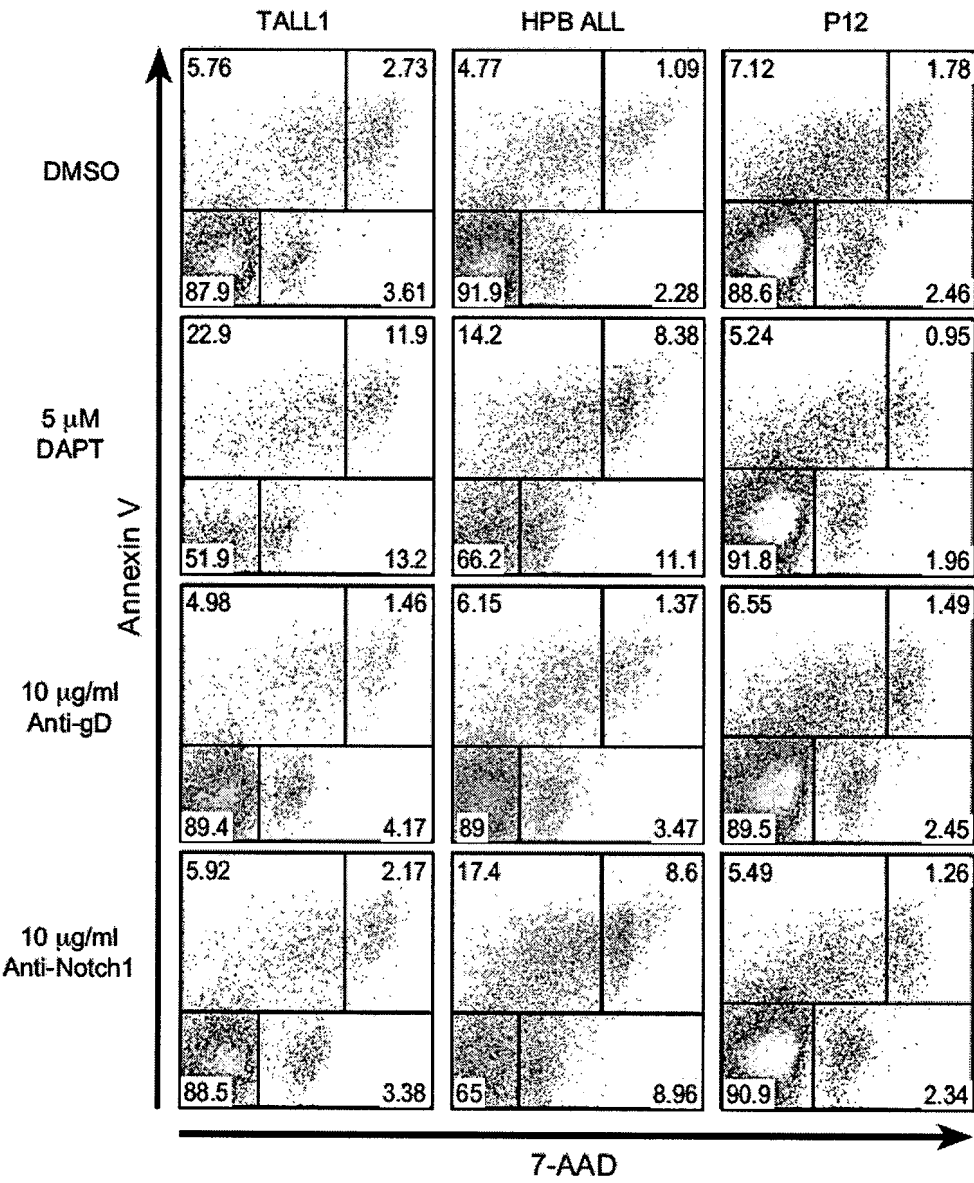
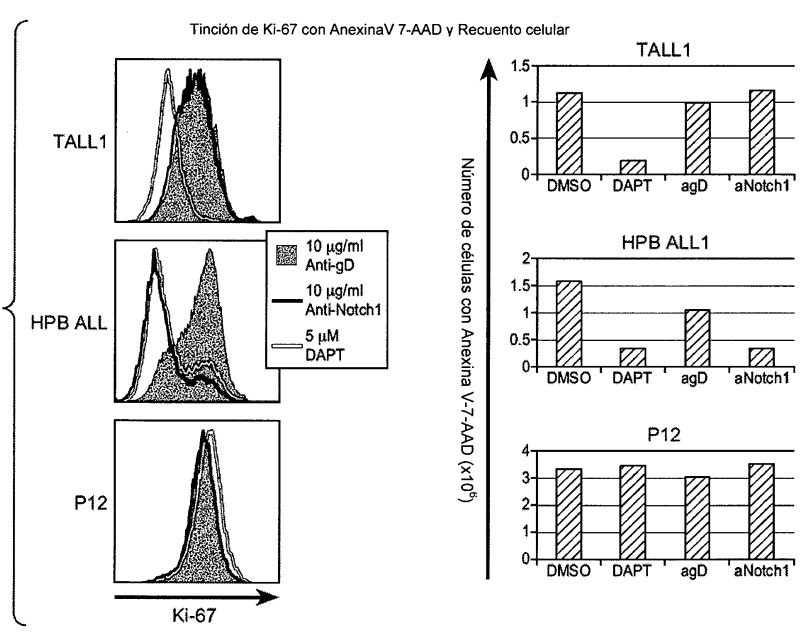


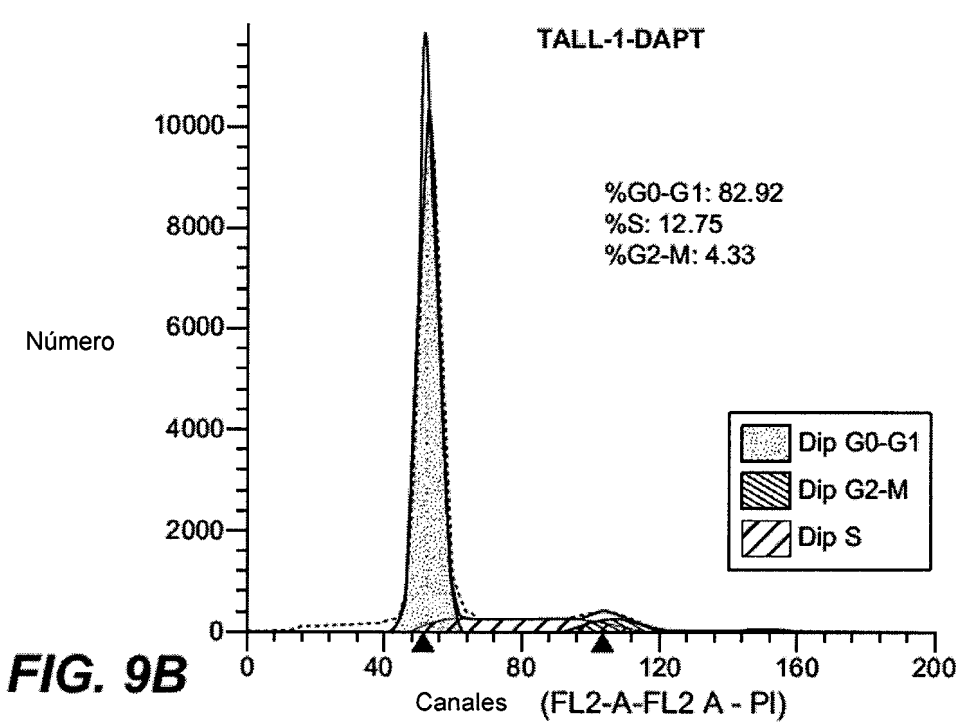
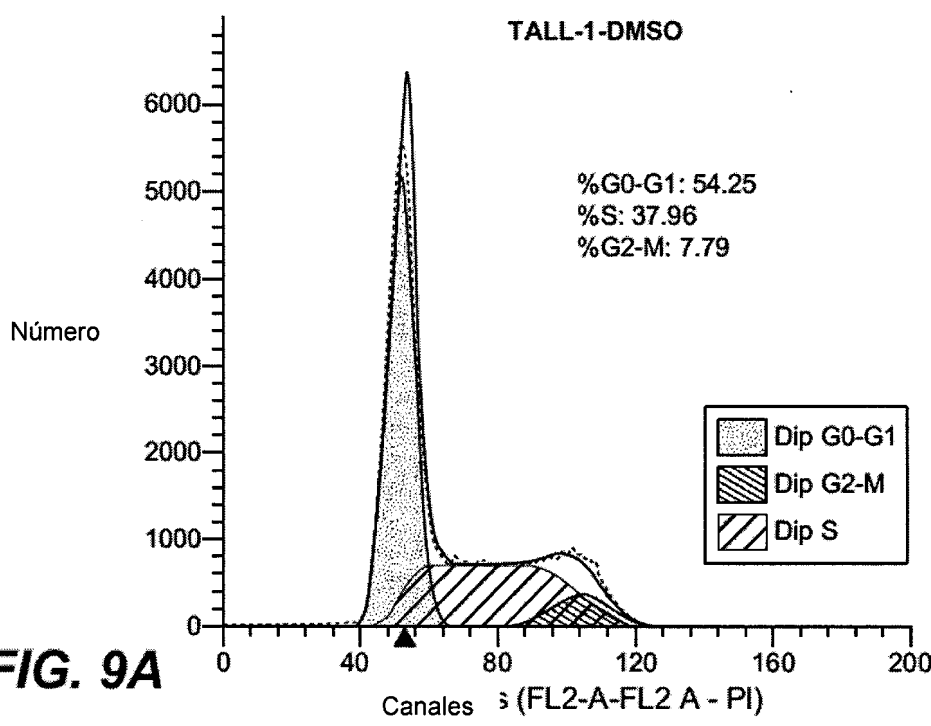
FIG. 7

FIG. 8



P4371R1 WO

15 / 25



P4371R1 WO

16 / 25

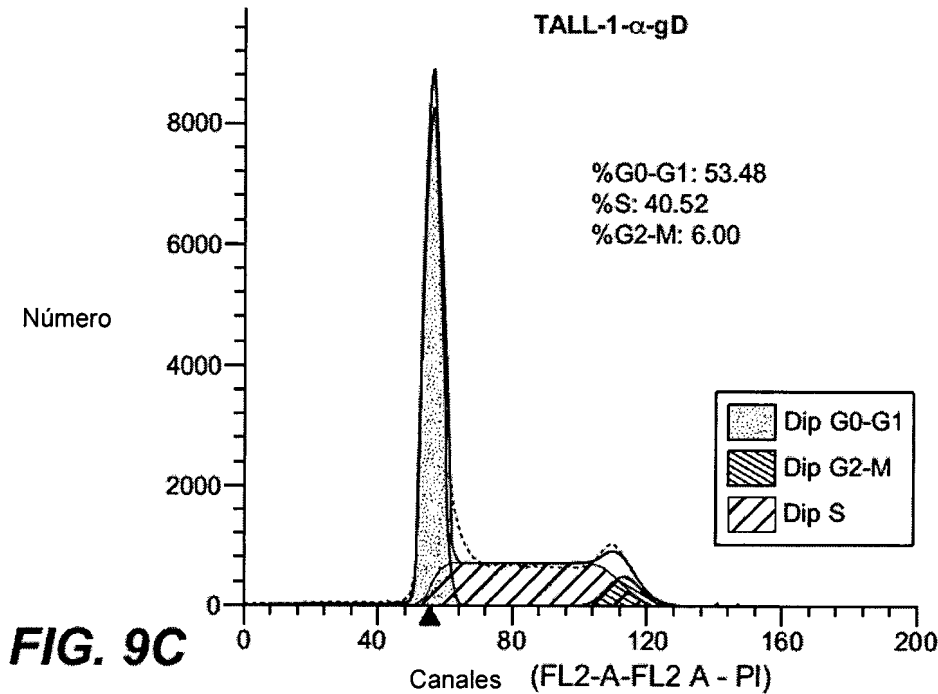


FIG. 9C

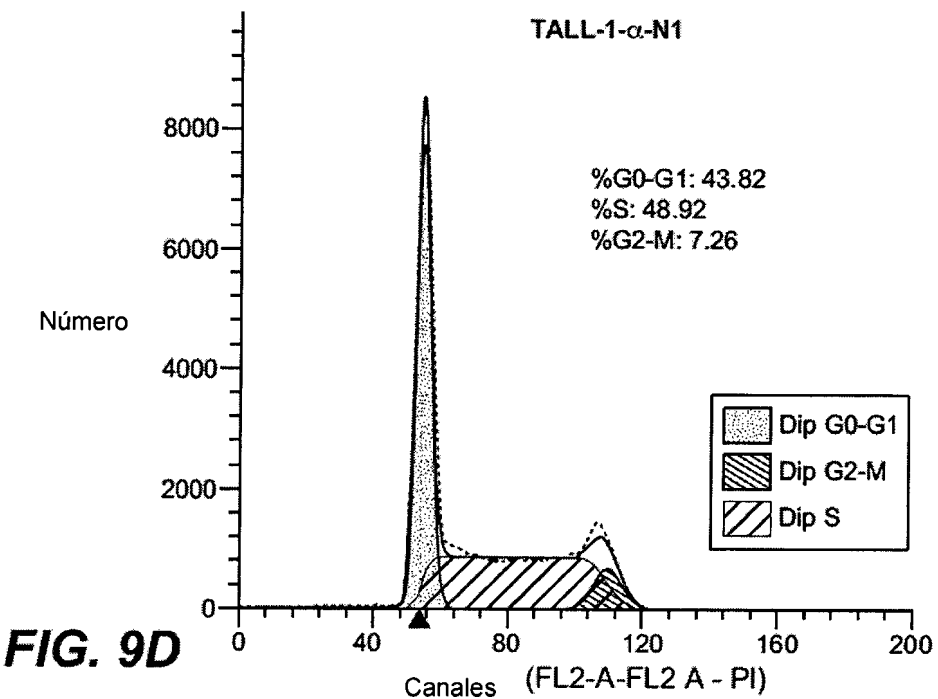
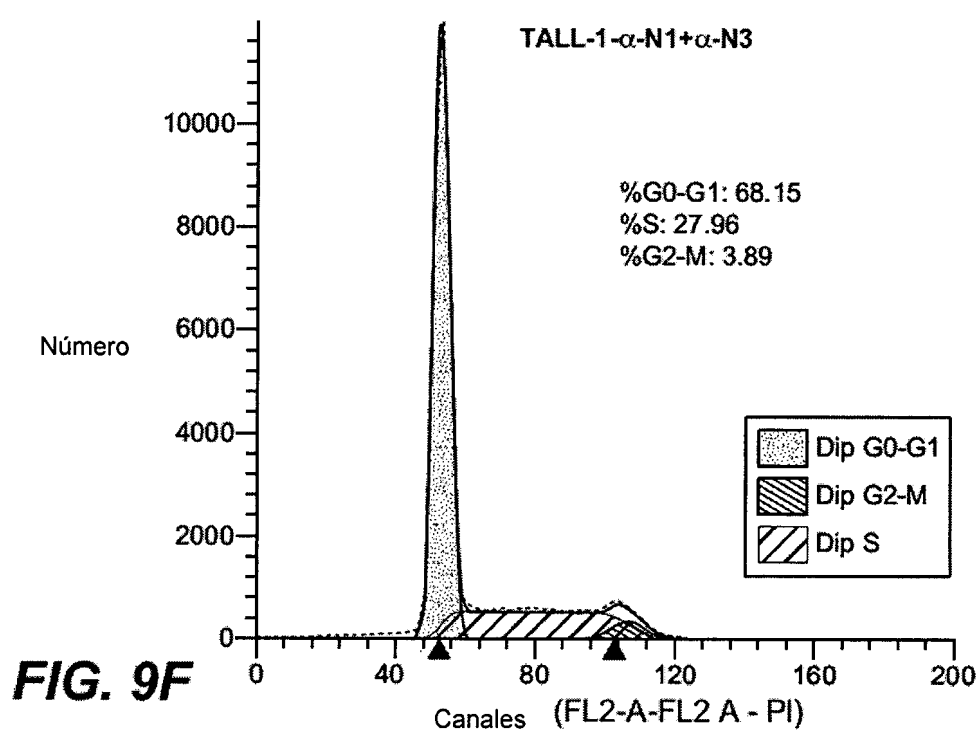
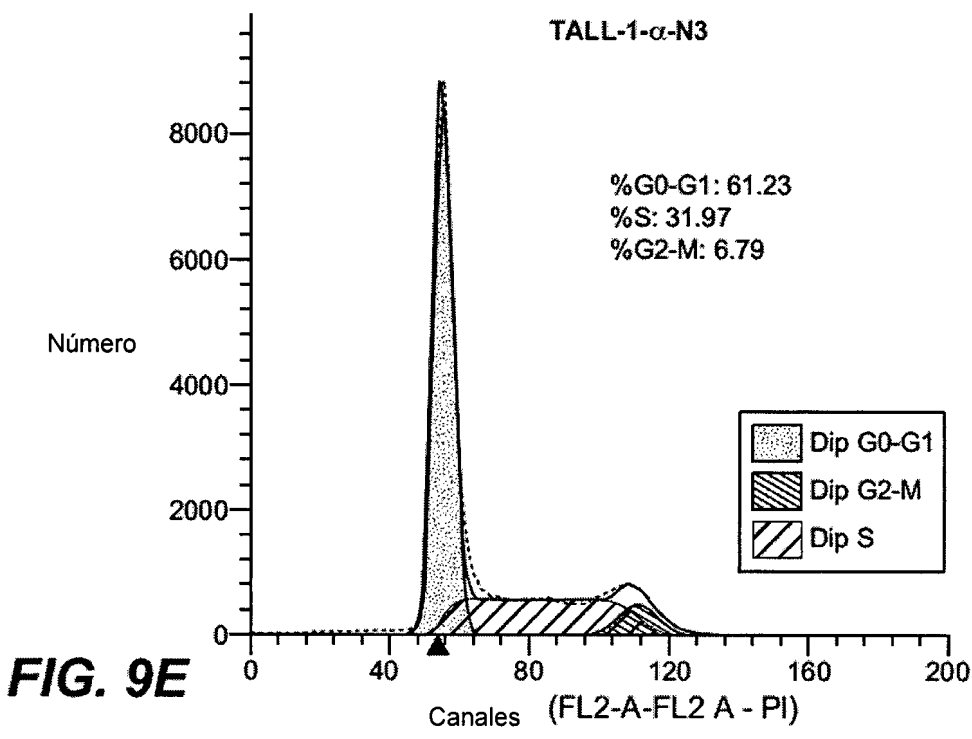


FIG. 9D

P4371R1 WO

17 / 25



P4371R1 WO

18 / 25

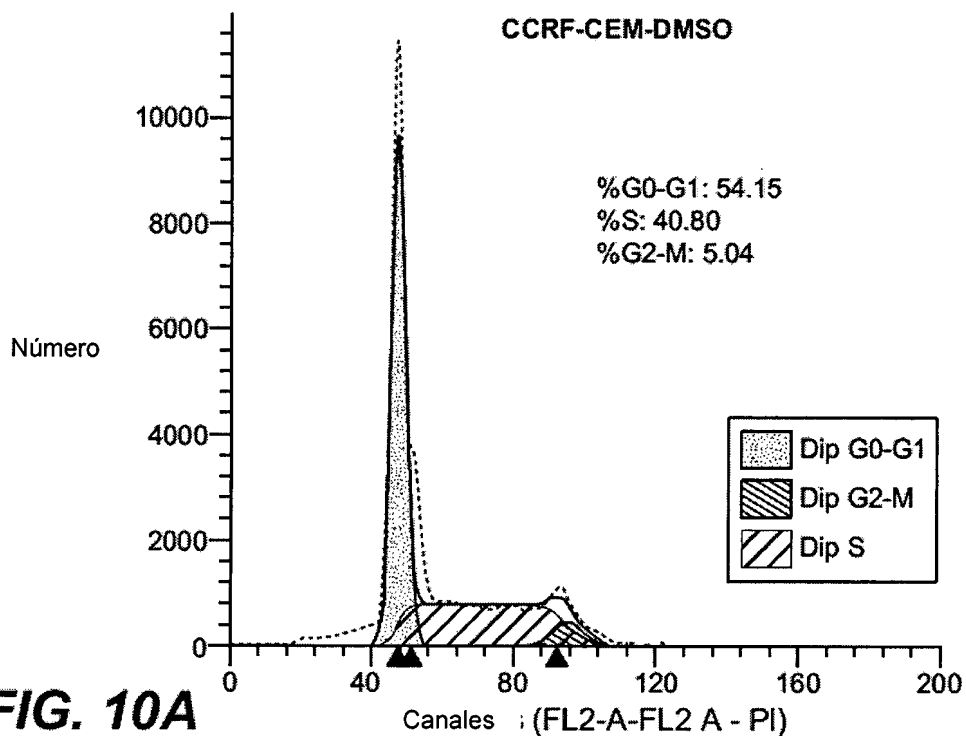


FIG. 10A

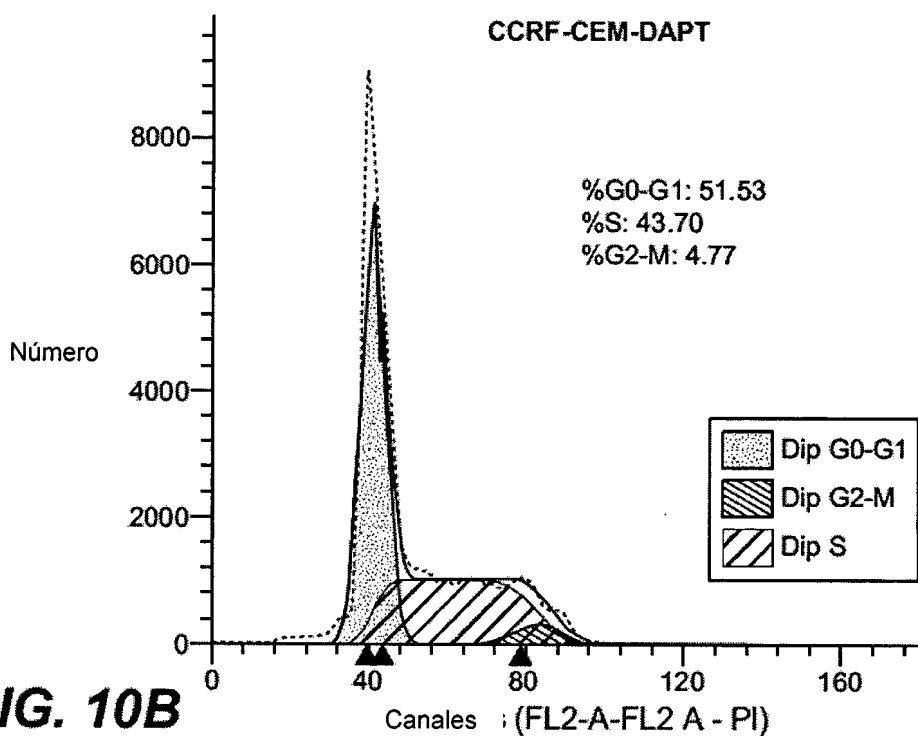


FIG. 10B

P4371R1 WO

19 / 25

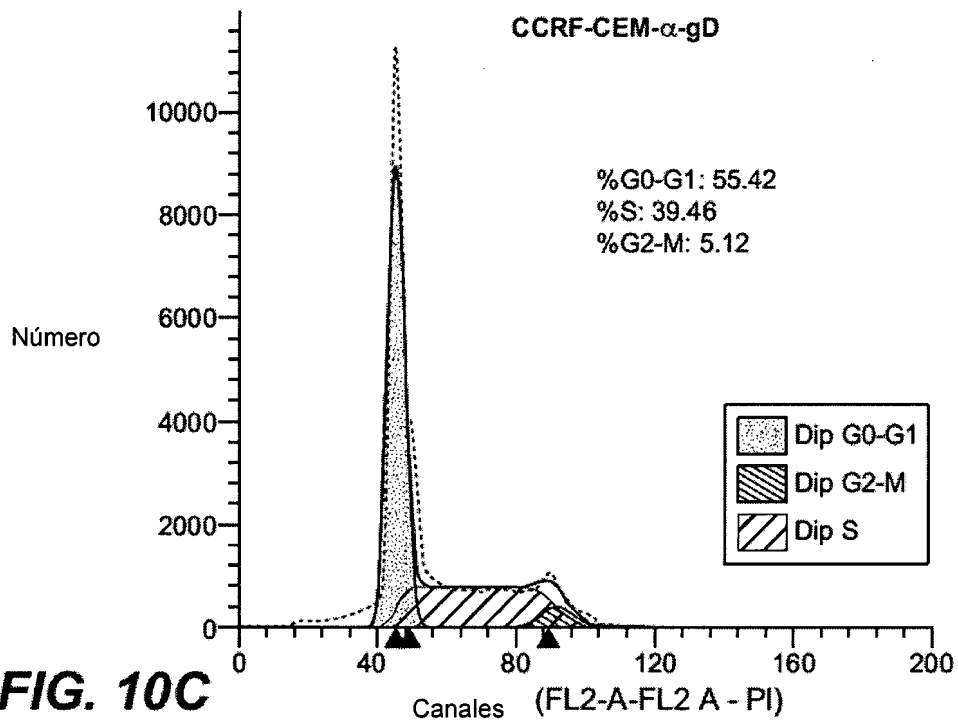


FIG. 10C

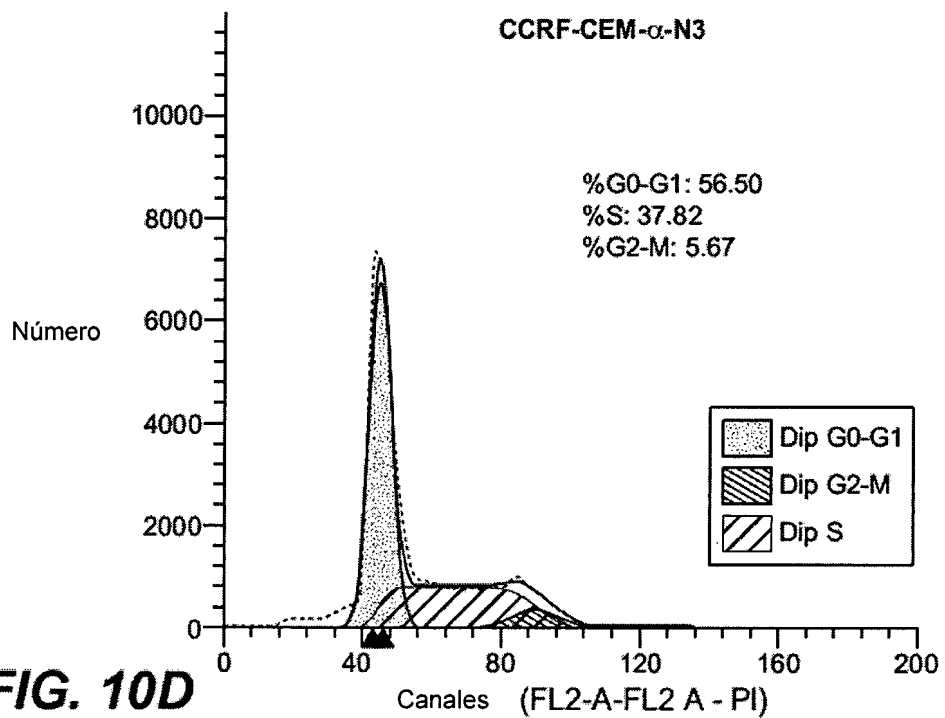


FIG. 10D

P4371R1 WO

20 / 25

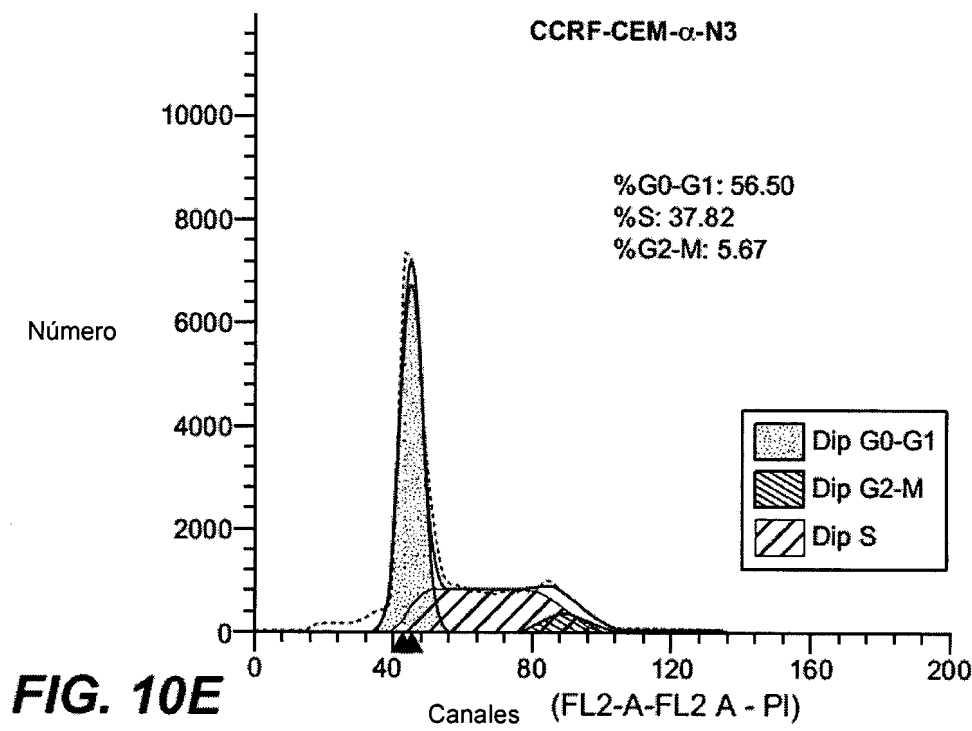


FIG. 10E

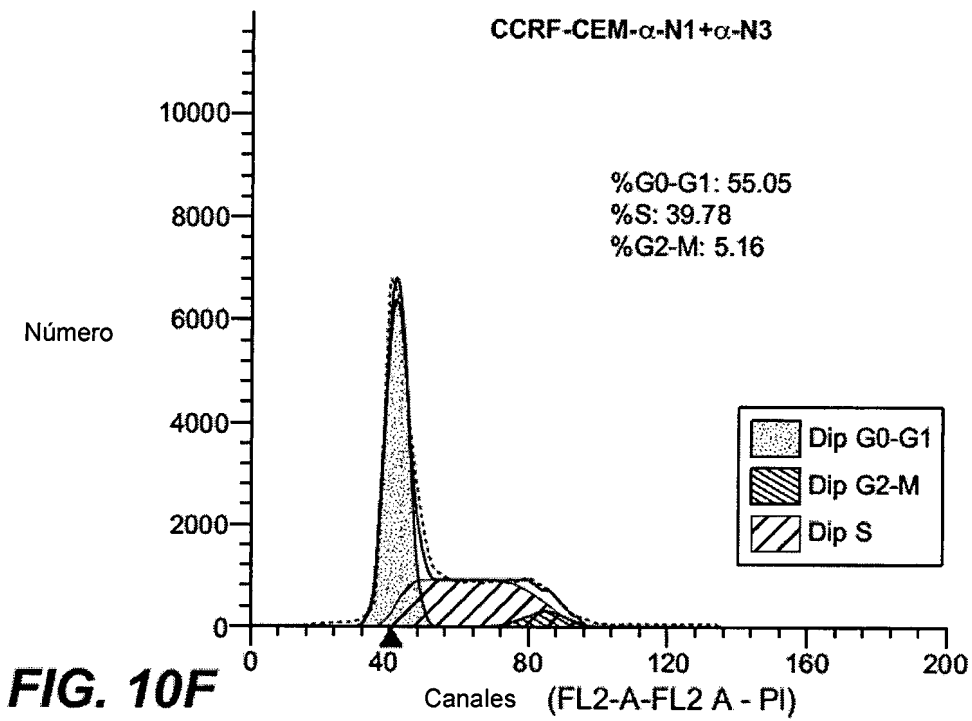


FIG. 10F

11

P4371R1 WO

21 / 25

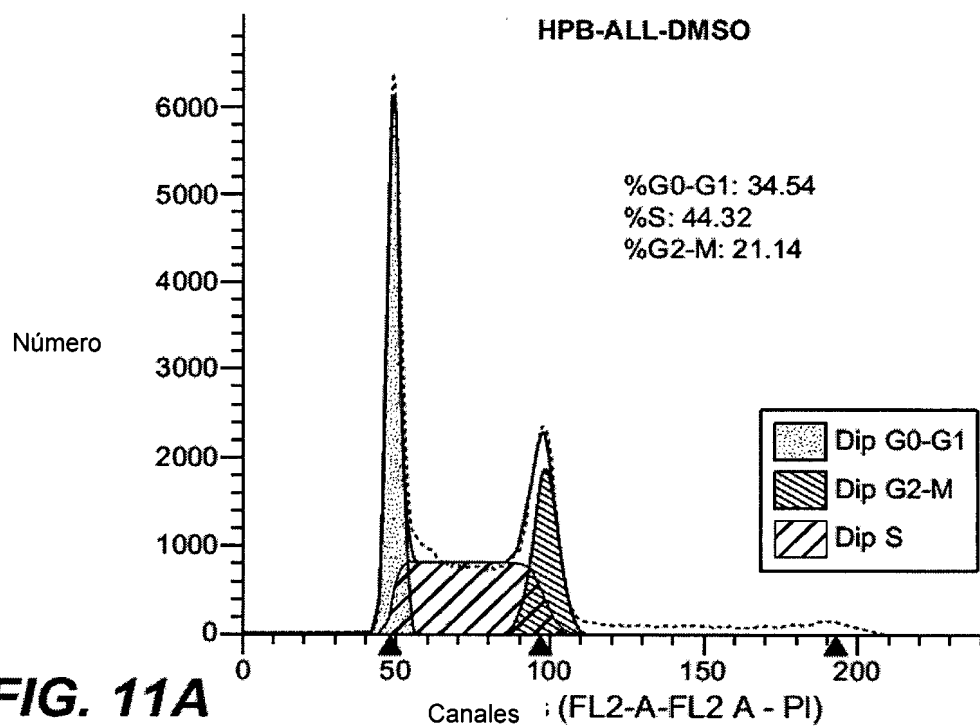


FIG. 11A

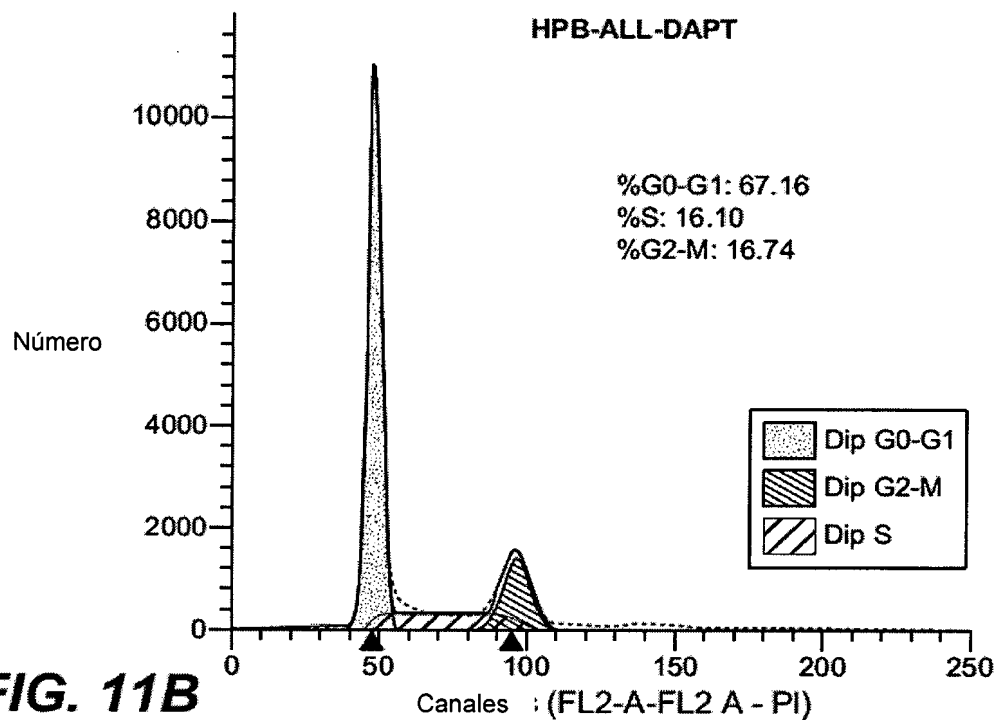


FIG. 11B

112

P4371R1 WO

22 / 25

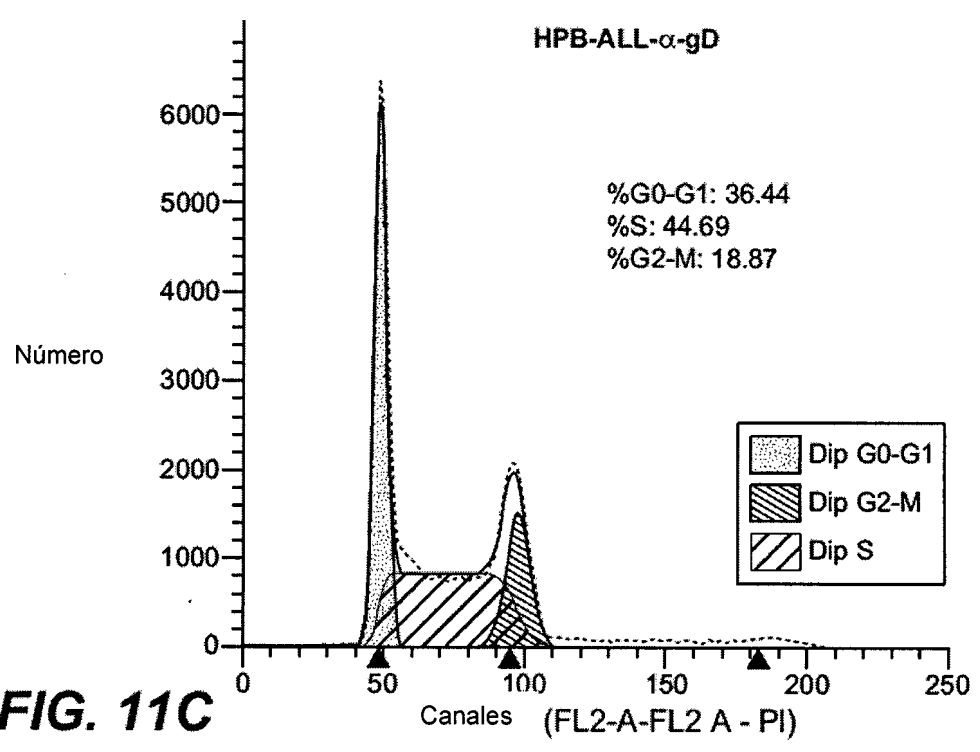


FIG. 11C

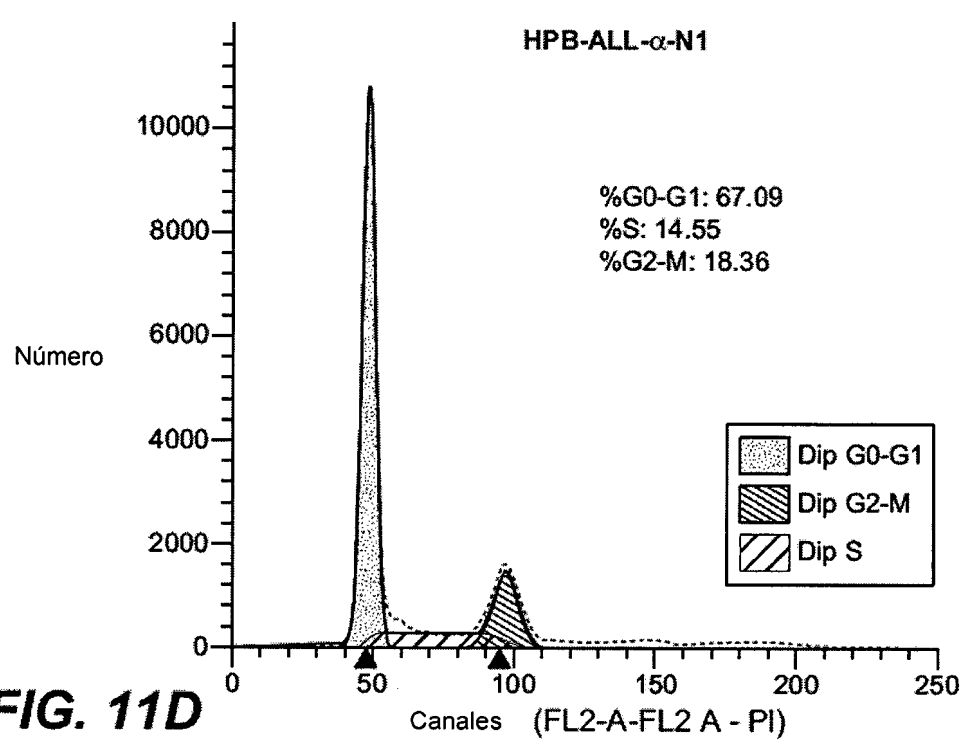


FIG. 11D

P4371R1 WO

23 / 25

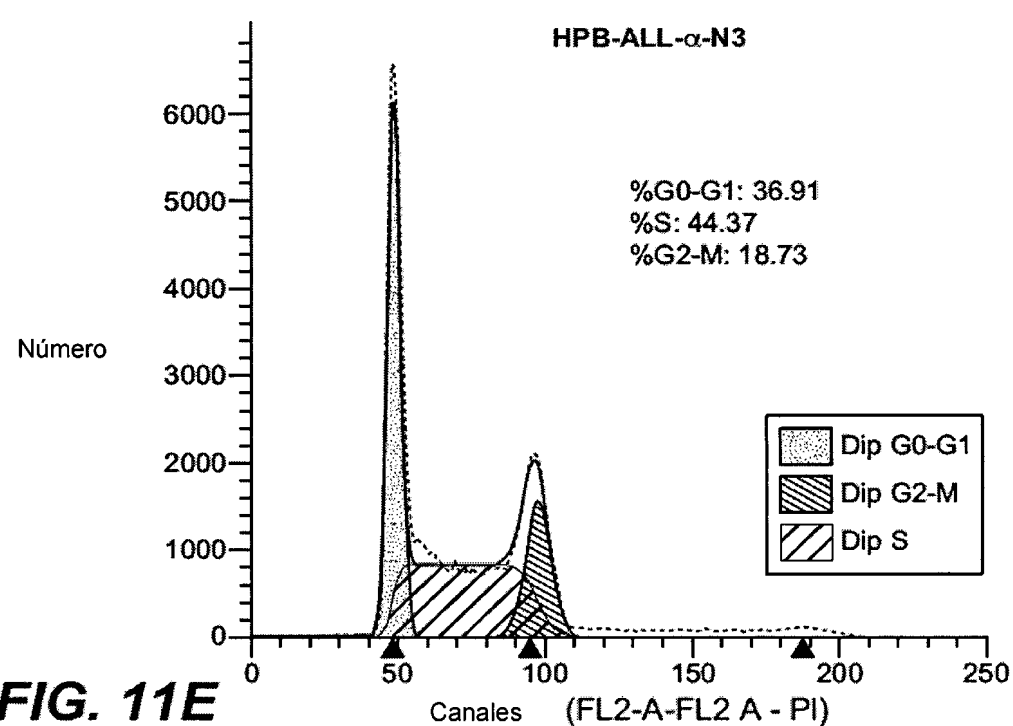


FIG. 11E

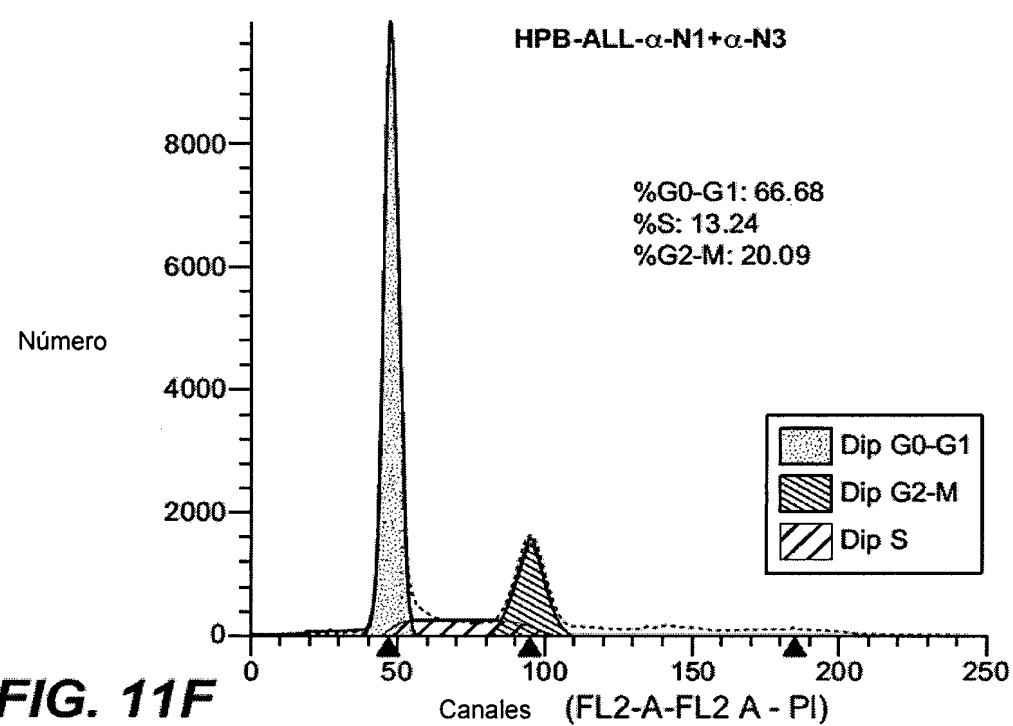


FIG. 11F

FIG. 12

Notch1, Notch3 activado en Líneas TALL

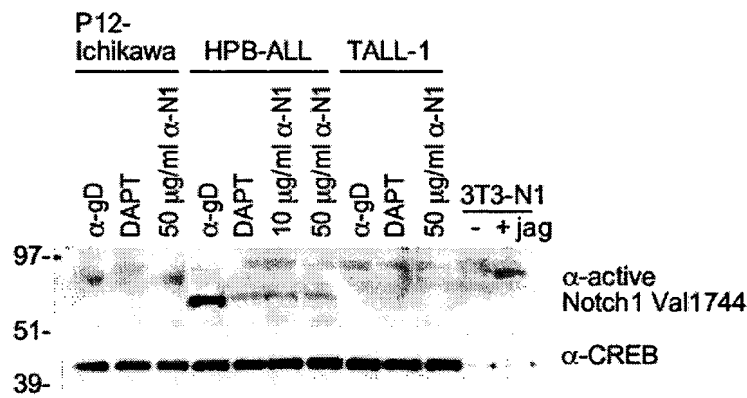
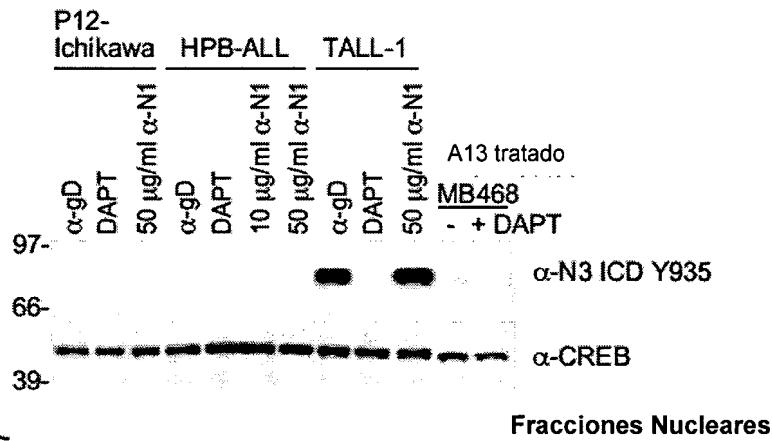


FIG. 13



Fracciones Nucleares

115

P4371R1 WO

25 / 25

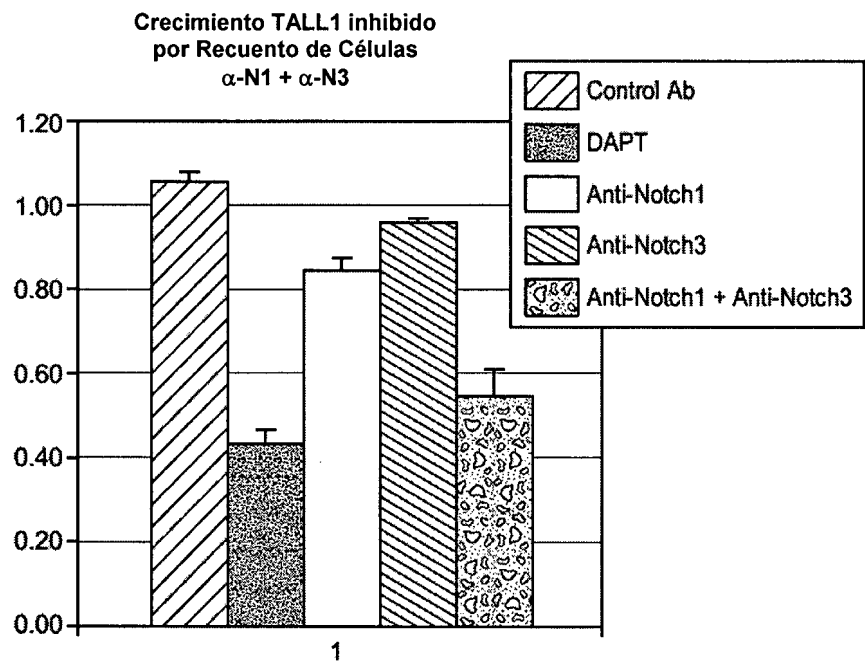


FIG. 14

GENENLAW-#407984-v1-P4371R1_-_Spanish_translation_of_Sequence_Listing
LISTADO DE SECUENCIAS

<110> GENENTECH, INC.; SIEBEL, CHRISTIAN W.
<120> MÉTODOS PARA TRATAR EL CÁNCER USANDO ANTAGONISTAS DE NOTCH
<130> P4371R1 WO
<140>
<141>
<150> 61/247,298
<151> 2009-09-30
<160> 4
<170> Patente en versión 3.5
<210> 1
<211> 2555
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 1
Met Pro Pro Leu Leu Ala Pro Leu Leu Cys Leu Ala Leu Leu Pro Ala
1 5 10 15

Leu Ala Ala Arg Gly Pro Arg Cys Ser Gln Pro Gly Glu Thr Cys Leu
20 25 30

Asn Gly Gly Lys Cys Glu Ala Ala Asn Gly Thr Glu Ala Cys Val Cys
35 40 45

Gly Gly Ala Phe Val Gly Pro Arg Cys Gln Asp Pro Asn Pro Cys Leu
50 55 60

Ser Thr Pro Cys Lys Asn Ala Gly Thr Cys His Val Val Asp Arg Arg
65 70 75 80

Gly Val Ala Asp Tyr Ala Cys Ser Cys Ala Leu Gly Phe Ser Gly Pro
85 90 95

Leu Cys Leu Thr Pro Leu Asp Asn Ala Cys Leu Thr Asn Pro Cys Arg
100 105 110

Asn Gly Gly Thr Cys Asp Leu Leu Thr Leu Thr Glu Tyr Lys Cys Arg
115 120 125

Cys Pro Pro Gly Trp Ser Gly Lys Ser Cys Gln Gln Ala Asp Pro Cys
130 135 140

Ala Ser Asn Pro Cys Ala Asn Gly Gly Gln Cys Leu Pro Phe Glu Ala
145 150 155 160

GENENLAW-#407984-v1-P4371R1_-_Spanish_translation_of_Sequence_Listing

Ser Tyr Ile Cys His Cys Pro Pro Ser Phe His Gly Pro Thr Cys Arg
165 170 175

Gln Asp Val Asn Glu Cys Gly Gln Lys Pro Gly Leu Cys Arg His Gly
180 185 190

Gly Thr Cys His Asn Glu Val Gly Ser Tyr Arg Cys Val Cys Arg Ala
195 200 205

Thr His Thr Gly Pro Asn Cys Glu Arg Pro Tyr Val Pro Cys Ser Pro
210 215 220

Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Thr Cys Arg Pro Thr Gly Asp Val Thr
225 230 235 240

His Glu Cys Ala Cys Leu Pro Gly Phe Thr Gly Gln Asn Cys Glu Glu
245 250 255

Asn Ile Asp Asp Cys Pro Gly Asn Asn Cys Lys Asn Gly Gly Ala Cys
260 265 270

Val Asp Gly Val Asn Thr Tyr Asn Cys Arg Cys Pro Pro Glu Trp Thr
275 280 285

Gly Gln Tyr Cys Thr Glu Asp Val Asp Glu Cys Gln Leu Met Pro Asn
290 295 300

Ala Cys Gln Asn Gly Gly Thr Cys His Asn Thr His Gly Gly Tyr Asn
305 310 315 320

Cys Val Cys Val Asn Gly Trp Thr Gly Glu Asp Cys Ser Glu Asn Ile
325 330 335

Asp Asp Cys Ala Ser Ala Ala Cys Phe His Gly Ala Thr Cys His Asp
340 345 350

Arg Val Ala Ser Phe Tyr Cys Glu Cys Pro His Gly Arg Thr Gly Leu
355 360 365

Leu Cys His Leu Asn Asp Ala Cys Ile Ser Asn Pro Cys Asn Glu Gly
370 375 380

Ser Asn Cys Asp Thr Asn Pro Val Asn Gly Lys Ala Ile Cys Thr Cys
385 390 395 400

Pro Ser Gly Tyr Thr Gly Pro Ala Cys Ser Gln Asp Val Asp Glu Cys
405 410 415

GENENLAW-#407984-v1-P4371R1_-_Spanish_translation_of_Sequence_Listing

Ser Leu Gly Ala Asn Pro Cys Glu His Ala Gly Lys Cys Ile Asn Thr
 420 425 430

Leu Gly Ser Phe Glu Cys Gln Cys Leu Gln Gly Tyr Thr Gly Pro Arg
 435 440 445

Cys Glu Ile Asp Val Asn Glu Cys Val Ser Asn Pro Cys Gln Asn Asp
 450 455 460

Ala Thr Cys Leu Asp Gln Ile Gly Glu Phe Gln Cys Ile Cys Met Pro
 465 470 475 480

Gly Tyr Glu Gly Val His Cys Glu Val Asn Thr Asp Glu Cys Ala Ser
 485 490 495

Ser Pro Cys Leu His Asn Gly Arg Cys Leu Asp Lys Ile Asn Glu Phe
 500 505 510

Gln Cys Glu Cys Pro Thr Gly Phe Thr Gly His Leu Cys Gln Tyr Asp
 515 520 525

Val Asp Glu Cys Ala Ser Thr Pro Cys Lys Asn Gly Ala Lys Cys Leu
 530 535 540

Asp Gly Pro Asn Thr Tyr Thr Cys Val Cys Thr Glu Gly Tyr Thr Gly
 545 550 555 560

Thr His Cys Glu Val Asp Ile Asp Glu Cys Asp Pro Asp Pro Cys His
 565 570 575

Tyr Gly Ser Cys Lys Asp Gly Val Ala Thr Phe Thr Cys Leu Cys Arg
 580 585 590

Pro Gly Tyr Thr Gly His His Cys Glu Thr Asn Ile Asn Glu Cys Ser
 595 600 605

Ser Gln Pro Cys Arg His Gly Gly Thr Cys Gln Asp Arg Asp Asn Ala
 610 615 620

Tyr Leu Cys Phe Cys Leu Lys Gly Thr Thr Gly Pro Asn Cys Glu Ile
 625 630 635 640

Asn Leu Asp Asp Cys Ala Ser Ser Pro Cys Asp Ser Gly Thr Cys Leu
 645 650 655

Asp Lys Ile Asp Gly Tyr Glu Cys Ala Cys Glu Pro Gly Tyr Thr Gly

GENENLAW-#407984-v1-P4371R1--_Spanish_translation_of_Sequence_Listing

Ser Met Cys Asn Ile Asn Ile Asp Glu Cys Ala Gly Asn Pro Cys His
 660 665 670
 Asn Gly Gly Thr Cys Glu Asp Gly Ile Asn Gly Phe Thr Cys Arg Cys
 690 695 700
 Pro Glu Gly Tyr His Asp Pro Thr Cys Leu Ser Glu Val Asn Glu Cys
 705 710 715 720
 Asn Ser Asn Pro Cys Val His Gly Ala Cys Arg Asp Ser Leu Asn Gly
 725 730 735
 Tyr Lys Cys Asp Cys Asp Pro Gly Trp Ser Gly Thr Asn Cys Asp Ile
 740 745 750
 Asn Asn Asn Glu Cys Glu Ser Asn Pro Cys Val Asn Gly Gly Thr Cys
 755 760 765
 Lys Asp Met Thr Ser Gly Tyr Val Cys Thr Cys Arg Glu Gly Phe Ser
 770 775 780
 Gly Pro Asn Cys Gln Thr Asn Ile Asn Glu Cys Ala Ser Asn Pro Cys
 785 790 795 800
 Leu Asn Gln Gly Thr Cys Ile Asp Asp Val Ala Gly Tyr Lys Cys Asn
 805 810 815
 Cys Leu Leu Pro Tyr Thr Gly Ala Thr Cys Glu Val Val Leu Ala Pro
 820 825 830
 Cys Ala Pro Ser Pro Cys Arg Asn Gly Gly Glu Cys Arg Gln Ser Glu
 835 840 845
 Asp Tyr Glu Ser Phe Ser Cys Val Cys Pro Thr Gly Trp Gln Gly Gln
 850 855 860
 Thr Cys Glu Val Asp Ile Asn Glu Cys Val Leu Ser Pro Cys Arg His
 865 870 875 880
 Gly Ala Ser Cys Gln Asn Thr His Gly Gly Tyr Arg Cys His Cys Gln
 885 890 895
 Ala Gly Tyr Ser Gly Arg Asn Cys Glu Thr Asp Ile Asp Asp Cys Arg
 900 905 910

GENENLAW-#407984-v1-P4371R1_-_Spanish_translation_of_Sequence_Listing

Pro Asn Pro Cys His Asn Gly Gly Ser Cys Thr Asp Gly Ile Asn Thr
 915 920 925

Ala Phe Cys Asp Cys Leu Pro Gly Phe Arg Gly Thr Phe Cys Glu Glu
 930 935 940

Asp Ile Asn Glu Cys Ala Ser Asp Pro Cys Arg Asn Gly Ala Asn Cys
 945 950 955 960

Thr Asp Cys Val Asp Ser Tyr Thr Cys Thr Cys Pro Ala Gly Phe Ser
 965 970 975

Gly Ile His Cys Glu Asn Asn Thr Pro Asp Cys Thr Glu Ser Ser Cys
 980 985 990

Phe Asn Gly Gly Thr Cys Val Asp Gly Ile Asn Ser Phe Thr Cys Leu
 995 1000 1005

Cys Pro Pro Gly Phe Thr Gly Ser Tyr Cys Gln His Asp Val Asn
 1010 1015 1020

Glu Cys Asp Ser Gln Pro Cys Leu His Gly Gly Thr Cys Gln Asp
 1025 1030 1035

Gly Cys Gly Ser Tyr Arg Cys Thr Cys Pro Gln Gly Tyr Thr Gly
 1040 1045 1050

Pro Asn Cys Gln Asn Leu Val His Trp Cys Asp Ser Ser Pro Cys
 1055 1060 1065

Lys Asn Gly Gly Lys Cys Trp Gln Thr His Thr Gln Tyr Arg Cys
 1070 1075 1080

Glu Cys Pro Ser Gly Trp Thr Gly Leu Tyr Cys Asp Val Pro Ser
 1085 1090 1095

Val Ser Cys Glu Val Ala Ala Gln Arg Gln Gly Val Asp Val Ala
 1100 1105 1110

Arg Leu Cys Gln His Gly Gly Leu Cys Val Asp Ala Gly Asn Thr
 1115 1120 1125

His His Cys Arg Cys Gln Ala Gly Tyr Thr Gly Ser Tyr Cys Glu
 1130 1135 1140

Asp Leu Val Asp Glu Cys Ser Pro Ser Pro Cys Gln Asn Gly Ala
 1145 1150 1155

GENENLAW-#407984-v1-P4371R1_-_Spanish_translation_of_Sequence_Listing

Thr	Cys	Thr	Asp	Tyr	Leu	Gly	Gly	Tyr	Ser	Cys	Lys	Cys	Val	Ala
	1160					1165					1170			
Gly	Tyr	His	Gly	Val	Asn	Cys	Ser	Glu	Glu	Ile	Asp	Glu	Cys	Leu
	1175					1180					1185			
Ser	His	Pro	Cys	Gln	Asn	Gly	Gly	Thr	Cys	Leu	Asp	Leu	Pro	Asn
	1190					1195					1200			
Thr	Tyr	Lys	Cys	Ser	Cys	Pro	Arg	Gly	Thr	Gln	Gly	Val	His	Cys
	1205					1210					1215			
Glu	Ile	Asn	Val	Asp	Asp	Cys	Asn	Pro	Pro	Val	Asp	Pro	Val	Ser
	1220					1225					1230			
Arg	Ser	Pro	Lys	Cys	Phe	Asn	Asn	Gly	Thr	Cys	Val	Asp	Gln	Val
	1235					1240					1245			
Gly	Gly	Tyr	Ser	Cys	Thr	Cys	Pro	Pro	Gly	Phe	Val	Gly	Glu	Arg
	1250					1255					1260			
Cys	Glu	Gly	Asp	Val	Asn	Glu	Cys	Leu	Ser	Asn	Pro	Cys	Asp	Ala
	1265					1270					1275			
Arg	Gly	Thr	Gln	Asn	Cys	Val	Gln	Arg	Val	Asn	Asp	Phe	His	Cys
	1280					1285					1290			
Glu	Cys	Arg	Ala	Gly	His	Thr	Gly	Arg	Arg	Cys	Glu	Ser	Val	Ile
	1295					1300					1305			
Asn	Gly	Cys	Lys	Gly	Lys	Pro	Cys	Lys	Asn	Gly	Gly	Thr	Cys	Ala
	1310					1315					1320			
Val	Ala	Ser	Asn	Thr	Ala	Arg	Gly	Phe	Ile	Cys	Lys	Cys	Pro	Ala
	1325					1330					1335			
Gly	Phe	Glu	Gly	Ala	Thr	Cys	Glu	Asn	Asp	Ala	Arg	Thr	Cys	Gly
	1340					1345					1350			
Ser	Leu	Arg	Cys	Leu	Asn	Gly	Gly	Thr	Cys	Ile	Ser	Gly	Pro	Arg
	1355					1360					1365			
Ser	Pro	Thr	Cys	Leu	Cys	Leu	Gly	Pro	Phe	Thr	Gly	Pro	Glu	Cys
	1370					1375					1380			
Gln	Phe	Pro	Ala	Ser	Ser	Pro	Cys	Leu	Gly	Gly	Asn	Pro	Cys	Tyr
	1385					1390					1395			

GENENLAW-#407984-v1-P4371R1_-_Spanish_translation_of_Sequence_Listing

Asn Gln Gly Thr Cys Glu Pro Thr Ser Glu Ser Pro Phe Tyr Arg
 1400 1405 1410
 Cys Leu Cys Pro Ala Lys Phe Asn Gly Leu Leu Cys His Ile Leu
 1415 1420 1425
 Asp Tyr Ser Phe Gly Gly Gly Ala Gly Arg Asp Ile Pro Pro Pro
 1430 1435 1440
 Leu Ile Glu Glu Ala Cys Glu Leu Pro Glu Cys Gln Glu Asp Ala
 1445 1450 1455
 Gly Asn Lys Val Cys Ser Leu Gln Cys Asn Asn His Ala Cys Gly
 1460 1465 1470
 Trp Asp Gly Gly Asp Cys Ser Leu Asn Phe Asn Asp Pro Trp Lys
 1475 1480 1485
 Asn Cys Thr Gln Ser Leu Gln Cys Trp Lys Tyr Phe Ser Asp Gly
 1490 1495 1500
 His Cys Asp Ser Gln Cys Asn Ser Ala Gly Cys Leu Phe Asp Gly
 1505 1510 1515
 Phe Asp Cys Gln Arg Ala Glu Gly Gln Cys Asn Pro Leu Tyr Asp
 1520 1525 1530
 Gln Tyr Cys Lys Asp His Phe Ser Asp Gly His Cys Asp Gln Gly
 1535 1540 1545
 Cys Asn Ser Ala Glu Cys Glu Trp Asp Gly Leu Asp Cys Ala Glu
 1550 1555 1560
 His Val Pro Glu Arg Leu Ala Ala Gly Thr Leu Val Val Val Val
 1565 1570 1575
 Leu Met Pro Pro Glu Gln Leu Arg Asn Ser Ser Phe His Phe Leu
 1580 1585 1590
 Arg Glu Leu Ser Arg Val Leu His Thr Asn Val Val Phe Lys Arg
 1595 1600 1605
 Asp Ala His Gly Gln Gln Met Ile Phe Pro Tyr Tyr Gly Arg Glu
 1610 1615 1620
 Glu Glu Leu Arg Lys His Pro Ile Lys Arg Ala Ala Glu Gly Trp

GENENLAW-#407984-v1-P4371R1_-_Spanish_translation_of_Sequence_Listing

Ala	Ala	Pro	Asp	Ala	Leu	Leu	Gly	Gln	Val	Lys	Ala	Ser	Leu	Leu
1640						1645					1650			
Pro	Gly	Gly	Ser	Glu	Gly	Gly	Arg	Arg	Arg	Arg	Glu	Leu	Asp	Pro
	1655					1660					1665			
Met	Asp	Val	Arg	Gly	Ser	Ile	Val	Tyr	Leu	Glu	Ile	Asp	Asn	Arg
	1670					1675					1680			
Gln	Cys	Val	Gln	Ala	Ser	Ser	Gln	Cys	Phe	Gln	Ser	Ala	Thr	Asp
	1685					1690					1695			
Val	Ala	Ala	Phe	Leu	Gly	Ala	Leu	Ala	Ser	Leu	Gly	Ser	Leu	Asn
	1700					1705					1710			
Ile	Pro	Tyr	Lys	Ile	Glu	Ala	Val	Gln	Ser	Glu	Thr	Val	Glu	Pro
	1715					1720					1725			
Pro	Pro	Pro	Ala	Gln	Leu	His	Phe	Met	Tyr	Val	Ala	Ala	Ala	Ala
	1730					1735					1740			
Phe	Val	Leu	Leu	Phe	Phe	Val	Gly	Cys	Gly	Val	Leu	Leu	Ser	Arg
	1745					1750					1755			
Lys	Arg	Arg	Arg	Gln	His	Gly	Gln	Leu	Trp	Phe	Pro	Glu	Gly	Phe
	1760					1765					1770			
Lys	Val	Ser	Glu	Ala	Ser	Lys	Lys	Lys	Arg	Arg	Glu	Pro	Leu	Gly
	1775					1780					1785			
Glu	Asp	Ser	Val	Gly	Leu	Lys	Pro	Leu	Lys	Asn	Ala	Ser	Asp	Gly
	1790					1795					1800			
Ala	Leu	Met	Asp	Asp	Asn	Gln	Asn	Glu	Trp	Gly	Asp	Glu	Asp	Leu
	1805					1810					1815			
Glu	Thr	Lys	Lys	Phe	Arg	Phe	Glu	Glu	Pro	Val	Val	Leu	Pro	Asp
	1820					1825					1830			
Leu	Asp	Asp	Gln	Thr	Asp	His	Arg	Gln	Trp	Thr	Gln	Gln	His	Leu
	1835					1840					1845			
Asp	Ala	Ala	Asp	Leu	Arg	Met	Ser	Ala	Met	Ala	Pro	Thr	Pro	Pro
	1850					1855					1860			

GENENLAW-#407984-v1-P4371R1--_Spanish_translation_of_Sequence_Listing

Gln	Gly	Glu	Val	Asp	Ala	Asp	Cys	Met	Asp	Val	Asn	Val	Arg	Gly
1865						1870					1875			
Pro	Asp	Gly	Phe	Thr	Pro	Leu	Met	Ile	Ala	Ser	Cys	Ser	Gly	Gly
1880						1885					1890			
Gly	Leu	Glu	Thr	Gly	Asn	Ser	Glu	Glu	Glu	Glu	Asp	Ala	Pro	Ala
1895						1900					1905			
Val	Ile	Ser	Asp	Phe	Ile	Tyr	Gln	Gly	Ala	Ser	Leu	His	Asn	Gln
1910						1915					1920			
Thr	Asp	Arg	Thr	Gly	Glu	Thr	Ala	Leu	His	Leu	Ala	Ala	Arg	Tyr
1925						1930					1935			
Ser	Arg	Ser	Asp	Ala	Ala	Lys	Arg	Leu	Leu	Glu	Ala	Ser	Ala	Asp
1940						1945					1950			
Ala	Asn	Ile	Gln	Asp	Asn	Met	Gly	Arg	Thr	Pro	Leu	His	Ala	Ala
1955						1960					1965			
Val	Ser	Ala	Asp	Ala	Gln	Gly	Val	Phe	Gln	Ile	Leu	Ile	Arg	Asn
1970						1975					1980			
Arg	Ala	Thr	Asp	Leu	Asp	Ala	Arg	Met	His	Asp	Gly	Thr	Thr	Pro
1985						1990					1995			
Leu	Ile	Leu	Ala	Ala	Arg	Leu	Ala	Val	Glu	Gly	Met	Leu	Glu	Asp
2000						2005					2010			
Leu	Ile	Asn	Ser	His	Ala	Asp	Val	Asn	Ala	Val	Asp	Asp	Leu	Gly
2015						2020					2025			
Lys	Ser	Ala	Leu	His	Trp	Ala	Ala	Ala	Val	Asn	Asn	Val	Asp	Ala
2030						2035					2040			
Ala	Val	Val	Leu	Leu	Lys	Asn	Gly	Ala	Asn	Lys	Asp	Met	Gln	Asn
2045						2050					2055			
Asn	Arg	Glu	Glu	Thr	Pro	Leu	Phe	Leu	Ala	Ala	Arg	Glu	Gly	Ser
2060						2065					2070			
Tyr	Glu	Thr	Ala	Lys	Val	Leu	Leu	Asp	His	Phe	Ala	Asn	Arg	Asp
2075						2080					2085			
Ile	Thr	Asp	His	Met	Asp	Arg	Leu	Pro	Arg	Asp	Ile	Ala	Gln	Glu
2090						2095					2100			

GENENLAW-#407984-v1-P4371R1_-_Spanish_translation_of_Sequence_Listing

Arg	Met	His	His	Asp	Ile	Val	Arg	Leu	Leu	Asp	Glu	Tyr	Asn	Leu
	2105					2110					2115			
Val	Arg	Ser	Pro	Gln	Leu	His	Gly	Ala	Pro	Leu	Gly	Gly	Thr	Pro
	2120					2125					2130			
Thr	Leu	Ser	Pro	Pro	Leu	Cys	Ser	Pro	Asn	Gly	Tyr	Leu	Gly	Ser
	2135					2140					2145			
Leu	Lys	Pro	Gly	Val	Gln	Gly	Lys	Lys	Val	Arg	Lys	Pro	Ser	Ser
	2150					2155					2160			
Lys	Gly	Leu	Ala	Cys	Gly	Ser	Lys	Glu	Ala	Lys	Asp	Leu	Lys	Ala
	2165					2170					2175			
Arg	Arg	Lys	Lys	Ser	Gln	Asp	Gly	Lys	Gly	Cys	Leu	Leu	Asp	Ser
	2180					2185					2190			
Ser	Gly	Met	Leu	Ser	Pro	Val	Asp	Ser	Leu	Glu	Ser	Pro	His	Gly
	2195					2200					2205			
Tyr	Leu	Ser	Asp	Val	Ala	Ser	Pro	Pro	Leu	Leu	Pro	Ser	Pro	Phe
	2210					2215					2220			
Gln	Gln	Ser	Pro	Ser	Val	Pro	Leu	Asn	His	Leu	Pro	Gly	Met	Pro
	2225					2230					2235			
Asp	Thr	His	Leu	Gly	Ile	Gly	His	Leu	Asn	Val	Ala	Ala	Lys	Pro
	2240					2245					2250			
Glu	Met	Ala	Ala	Leu	Gly	Gly	Gly	Gly	Arg	Leu	Ala	Phe	Glu	Thr
	2255					2260					2265			
Gly	Pro	Pro	Arg	Leu	Ser	His	Leu	Pro	Val	Ala	Ser	Gly	Thr	Ser
	2270					2275					2280			
Thr	Val	Leu	Gly	Ser	Ser	Ser	Gly	Gly	Ala	Leu	Asn	Phe	Thr	Val
	2285					2290					2295			
Gly	Gly	Ser	Thr	Ser	Leu	Asn	Gly	Gln	Cys	Glu	Trp	Leu	Ser	Arg
	2300					2305					2310			
Leu	Gln	Ser	Gly	Met	Val	Pro	Asn	Gln	Tyr	Asn	Pro	Leu	Arg	Gly
	2315					2320					2325			
Ser	Val	Ala	Pro	Gly	Pro	Leu	Ser	Thr	Gln	Ala	Pro	Ser	Leu	Gln
	2330					2335					2340			

GENENLAW-#407984-v1-P4371R1_-_Spanish_translation_of_Sequence_Listing

His Gly Met Val Gly Pro Leu His Ser Ser Leu Ala Ala Ser Ala
2345 2350 2355

Leu Ser Gln Met Met Ser Tyr Gln Gly Leu Pro Ser Thr Arg Leu
2360 2365 2370

Ala Thr Gln Pro His Leu Val Gln Thr Gln Gln Val Gln Pro Gln
2375 2380 2385

Asn Leu Gln Met Gln Gln Gln Asn Leu Gln Pro Ala Asn Ile Gln
2390 2395 2400

Gln Gln Gln Ser Leu Gln Pro Pro Pro Pro Pro Gln Pro His
2405 2410 2415

Leu Gly Val Ser Ser Ala Ala Ser Gly His Leu Gly Arg Ser Phe
2420 2425 2430

Leu Ser Gly Glu Pro Ser Gln Ala Asp Val Gln Pro Leu Gly Pro
2435 2440 2445

Ser Ser Leu Ala Val His Thr Ile Leu Pro Gln Glu Ser Pro Ala
2450 2455 2460

Leu Pro Thr Ser Leu Pro Ser Ser Leu Val Pro Pro Val Thr Ala
2465 2470 2475

Ala Gln Phe Leu Thr Pro Pro Ser Gln His Ser Tyr Ser Ser Pro
2480 2485 2490

Val Asp Asn Thr Pro Ser His Gln Leu Gln Val Pro Glu His Pro
2495 2500 2505

Phe Leu Thr Pro Ser Pro Glu Ser Pro Asp Gln Trp Ser Ser Ser
2510 2515 2520

Ser Pro His Ser Asn Val Ser Asp Trp Ser Glu Gly Val Ser Ser
2525 2530 2535

Pro Pro Thr Ser Met Gln Ser Gln Ile Ala Arg Ile Pro Glu Ala
2540 2545 2550

Phe Lys
2555

127

GENENLAW-#407984-v1-P4371R1_-_Spanish_translation_of_Sequence_Listing

<211> 2531

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 2

Met Pro Arg Leu Leu Thr Pro Leu Leu Cys Leu Thr Leu Leu Pro Ala
1 5 10 15

Leu Ala Ala Arg Gly Leu Arg Cys Ser Gln Pro Ser Gly Thr Cys Leu
20 25 30

Asn Gly Gly Arg Cys Glu Val Ala Asn Gly Thr Glu Ala Cys Val Cys
35 40 45

Ser Gly Ala Phe Val Gly Gln Arg Cys Gln Asp Ser Asn Pro Cys Leu
50 55 60

Ser Thr Pro Cys Lys Asn Ala Gly Thr Cys His Val Val Asp His Gly
65 70 75 80

Gly Thr Val Asp Tyr Ala Cys Ser Cys Pro Leu Gly Phe Ser Gly Pro
85 90 95

Leu Cys Leu Thr Pro Leu Asp Asn Ala Cys Leu Ala Asn Pro Cys Arg
100 105 110

Asn Gly Gly Thr Cys Asp Leu Leu Thr Leu Thr Glu Tyr Lys Cys Arg
115 120 125

Cys Pro Pro Gly Trp Ser Gly Lys Ser Cys Gln Gln Ala Asp Pro Cys
130 135 140

Ala Ser Asn Pro Cys Ala Asn Gly Gly Gln Cys Leu Pro Phe Glu Ser
145 150 155 160

Ser Tyr Ile Cys Arg Cys Pro Pro Gly Phe His Gly Pro Thr Cys Arg
165 170 175

Gln Asp Val Asn Glu Cys Ser Gln Asn Pro Gly Leu Cys Arg His Gly
180 185 190

Gly Thr Cys His Asn Glu Ile Gly Ser Tyr Arg Cys Ala Cys Arg Ala
195 200 205

Thr His Thr Gly Pro His Cys Glu Leu Pro Tyr Val Pro Cys Ser Pro
210 215 220

Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Thr Cys Arg Pro Thr Gly Asp Thr Thr
225 230 235 240

GENENLAW-#407984-v1-P4371R1_-_Spanish_translation_of_Sequence_Listing

His Glu Cys Ala Cys₂₄₅ Leu Pro Gly Phe Ala₂₅₀ Gly Gln Asn Cys Glu₂₅₅ Glu
 Asn Val Asp Asp₂₆₀ Cys Pro Gly Asn Asn₂₆₅ Cys Lys Asn Gly Gly₂₇₀ Ala Cys
 Val Asp Gly₂₇₅ Val Asn Thr Tyr Asn₂₈₀ Cys Arg Cys Pro Pro₂₈₅ Glu Trp Thr
 Gly Gln Tyr Cys Thr Glu Asp₂₉₅ Val Asp Glu Cys Gln₃₀₀ Leu Met Pro Asn
 Ala Cys Gln Asn Gly Gly₃₁₀ Thr Cys His Asn Thr₃₁₅ His Gly Gly Tyr Asn₃₂₀
 Cys Val Cys Val Asn₃₂₅ Gly Trp Thr Gly Glu₃₃₀ Asp Cys Ser Glu Asn₃₃₅ Ile
 Asp Asp Cys Ala₃₄₀ Ser Ala Ala Cys Phe₃₄₅ Gln Gly Ala Thr Cys₃₅₀ His Asp
 Arg Val Ala₃₅₅ Ser Phe Tyr Cys Glu₃₆₀ Cys Pro His Gly Arg₃₆₅ Thr Gly Leu
 Leu Cys₃₇₀ His Leu Asn Asp Ala₃₇₅ Cys Ile Ser Asn Pro₃₈₀ Cys Asn Glu Gly
 Ser Asn Cys Asp Thr Asn₃₉₀ Pro Val Asn Gly Lys₃₉₅ Ala Ile Cys Thr Cys₄₀₀
 Pro Ser Gly Tyr Thr₄₀₅ Gly Pro Ala Cys Ser₄₁₀ Gln Asp Val Asp Glu₄₁₅ Cys
 Ala Leu Gly Ala₄₂₀ Asn Pro Cys Glu His₄₂₅ Ala Gly Lys Cys Leu Asn Thr
 Leu Gly Ser₄₃₅ Phe Glu Cys Gln Cys₄₄₀ Leu Gln Gly Tyr Thr₄₄₅ Gly Pro Arg
 Cys Glu₄₅₀ Ile Asp Val Asn Glu₄₅₅ Cys Ile Ser Asn Pro₄₆₀ Cys Gln Asn Asp
 Ala Thr Cys Leu Asp Gln₄₇₀ Ile Gly Glu Phe Gln₄₇₅ Cys Ile Cys Met Pro₄₈₀
 Gly Tyr Glu Gly Val Tyr Cys Glu Ile Asn Thr Asp Glu Cys Ala Ser

GENENLAW-#407984-v1-P4371R1_-_Spanish_translation_of_Sequence_Listing
 485 490 495

Ser Pro Cys Leu His Asn Gly His Cys Met Asp Lys Ile Asn Glu Phe
 500 505 510

Gln Cys Gln Cys Pro Lys Gly Phe Asn Gly His Leu Cys Gln Tyr Asp
 515 520 525

Val Asp Glu Cys Ala Ser Thr Pro Cys Lys Asn Gly Ala Lys Cys Leu
 530 535 540

Asp Gly Pro Asn Thr Tyr Thr Cys Val Cys Thr Glu Gly Tyr Thr Gly
 545 550 555 560

Thr His Cys Glu Val Asp Ile Asp Glu Cys Asp Pro Asp Pro Cys His
 565 570 575

Tyr Gly Ser Cys Lys Asp Gly Val Ala Thr Phe Thr Cys Leu Cys Gln
 580 585 590

Pro Gly Tyr Thr Gly His His Cys Glu Thr Asn Ile Asn Glu Cys His
 595 600 605

Ser Gln Pro Cys Arg His Gly Gly Thr Cys Gln Asp Arg Asp Asn Ser
 610 615 620

Tyr Leu Cys Leu Cys Leu Lys Gly Thr Thr Gly Pro Asn Cys Glu Ile
 625 630 635 640

Asn Leu Asp Asp Cys Ala Ser Asn Pro Cys Asp Ser Gly Thr Cys Leu
 645 650 655

Asp Lys Ile Asp Gly Tyr Glu Cys Ala Cys Glu Pro Gly Tyr Thr Gly
 660 665 670

Ser Met Cys Asn Val Asn Ile Asp Glu Cys Ala Gly Ser Pro Cys His
 675 680 685

Asn Gly Gly Thr Cys Glu Asp Gly Ile Ala Gly Phe Thr Cys Arg Cys
 690 695 700

Pro Glu Gly Tyr His Asp Pro Thr Cys Leu Ser Glu Val Asn Glu Cys
 705 710 715 720

Asn Ser Asn Pro Cys Ile His Gly Ala Cys Arg Asp Gly Leu Asn Gly
 725 730 735

GENENLAW-#407984-v1-P4371R1--_Spanish_translation_of_Sequence_Listing

Tyr Lys Cys Asp Cys Ala Pro Gly Trp Ser Gly Thr Asn Cys Asp Ile
740 745 750

Asn Asn Asn Glu Cys Glu Ser Asn Pro Cys Val Asn Gly Gly Thr Cys
755 760 765

Lys Asp Met Thr Ser Gly Tyr Val Cys Thr Cys Arg Glu Gly Phe Ser
770 775 780

Gly Pro Asn Cys Gln Thr Asn Ile Asn Glu Cys Ala Ser Asn Pro Cys
785 790 795 800

Leu Asn Gln Gly Thr Cys Ile Asp Asp Val Ala Gly Tyr Lys Cys Asn
805 810 815

Cys Pro Leu Pro Tyr Thr Gly Ala Thr Cys Glu Val Val Leu Ala Pro
820 825 830

Cys Ala Thr Ser Pro Cys Lys Asn Ser Gly Val Cys Lys Glu Ser Glu
835 840 845

Asp Tyr Glu Ser Phe Ser Cys Val Cys Pro Thr Gly Trp Gln Gly Gln
850 855 860

Thr Cys Glu Val Asp Ile Asn Glu Cys Val Lys Ser Pro Cys Arg His
865 870 875 880

Gly Ala Ser Cys Gln Asn Thr Asn Gly Ser Tyr Arg Cys Leu Cys Gln
885 890 895

Ala Gly Tyr Thr Gly Arg Asn Cys Glu Ser Asp Ile Asp Asp Cys Arg
900 905 910

Pro Asn Pro Cys His Asn Gly Gly Ser Cys Thr Asp Gly Ile Asn Thr
915 920 925

Ala Phe Cys Asp Cys Leu Pro Gly Phe Gln Gly Ala Phe Cys Glu Glu
930 935 940

Asp Ile Asn Glu Cys Ala Ser Asn Pro Cys Gln Asn Gly Ala Asn Cys
945 950 955 960

Thr Asp Cys Val Asp Ser Tyr Thr Cys Thr Cys Pro Val Gly Phe Asn
965 970 975

Gly Ile His Cys Glu Asn Asn Thr Pro Asp Cys Thr Glu Ser Ser Cys
980 985 990

GENENLAW-#407984-v1-P4371R1--_Spanish_translation_of_Sequence_Listing

Phe Asn Gly Gly Thr Cys Val Asp Gly Ile Asn Ser Phe Thr Cys Leu
995 1000 1005

Cys Pro Pro Gly Phe Thr Gly Ser Tyr Cys Gln Tyr Asp Val Asn
1010 1015 1020

Glu Cys Asp Ser Arg Pro Cys Leu His Gly Gly Thr Cys Gln Asp
1025 1030 1035

Ser Tyr Gly Thr Tyr Lys Cys Thr Cys Pro Gln Gly Tyr Thr Gly
1040 1045 1050

Leu Asn Cys Gln Asn Leu Val Arg Trp Cys Asp Ser Ala Pro Cys
1055 1060 1065

Lys Asn Gly Gly Arg Cys Trp Gln Thr Asn Thr Gln Tyr His Cys
1070 1075 1080

Glu Cys Arg Ser Gly Trp Thr Gly Val Asn Cys Asp Val Leu Ser
1085 1090 1095

Val Ser Cys Glu Val Ala Ala Gln Lys Arg Gly Ile Asp Val Thr
1100 1105 1110

Leu Leu Cys Gln His Gly Gly Leu Cys Val Asp Glu Gly Asp Lys
1115 1120 1125

His Tyr Cys His Cys Gln Ala Gly Tyr Thr Gly Ser Tyr Cys Glu
1130 1135 1140

Asp Glu Val Asp Glu Cys Ser Pro Asn Pro Cys Gln Asn Gly Ala
1145 1150 1155

Thr Cys Thr Asp Tyr Leu Gly Gly Phe Ser Cys Lys Cys Val Ala
1160 1165 1170

Gly Tyr His Gly Ser Asn Cys Ser Glu Glu Ile Asn Glu Cys Leu
1175 1180 1185

Ser Gln Pro Cys Gln Asn Gly Gly Thr Cys Ile Asp Leu Thr Asn
1190 1195 1200

Ser Tyr Lys Cys Ser Cys Pro Arg Gly Thr Gln Gly Val His Cys
1205 1210 1215

Glu Ile Asn Val Asp Asp Cys His Pro Pro Leu Asp Pro Ala Ser
1220 1225 1230

GENENLAW-#407984-v1-P4371R1_-_Spanish_translation_of_Sequence_Listing

Arg Ser Pro Lys Cys Phe Asn Asn Gly Thr Cys Val Asp Gln Val
 1235 1240 1245
 Gly Gly Tyr Thr Cys Thr Cys Pro Pro Gly Phe Val Gly Glu Arg
 1250 1255 1260
 Cys Glu Gly Asp Val Asn Glu Cys Leu Ser Asn Pro Cys Asp Pro
 1265 1270 1275
 Arg Gly Thr Gln Asn Cys Val Gln Arg Val Asn Asp Phe His Cys
 1280 1285 1290
 Glu Cys Arg Ala Gly His Thr Gly Arg Arg Cys Glu Ser Val Ile
 1295 1300 1305
 Asn Gly Cys Arg Gly Lys Pro Cys Lys Asn Gly Gly Val Cys Ala
 1310 1315 1320
 Val Ala Ser Asn Thr Ala Arg Gly Phe Ile Cys Arg Cys Pro Ala
 1325 1330 1335
 Gly Phe Glu Gly Ala Thr Cys Glu Asn Asp Ala Arg Thr Cys Gly
 1340 1345 1350
 Ser Leu Arg Cys Leu Asn Gly Gly Thr Cys Ile Ser Gly Pro Arg
 1355 1360 1365
 Ser Pro Thr Cys Leu Cys Leu Gly Ser Phe Thr Gly Pro Glu Cys
 1370 1375 1380
 Gln Phe Pro Ala Ser Ser Pro Cys Val Gly Ser Asn Pro Cys Tyr
 1385 1390 1395
 Asn Gln Gly Thr Cys Glu Pro Thr Ser Glu Asn Pro Phe Tyr Arg
 1400 1405 1410
 Cys Leu Cys Pro Ala Lys Phe Asn Gly Leu Leu Cys His Ile Leu
 1415 1420 1425
 Asp Tyr Ser Phe Thr Gly Gly Ala Gly Arg Asp Ile Pro Pro Pro
 1430 1435 1440
 Gln Ile Glu Glu Ala Cys Glu Leu Pro Glu Cys Gln Val Asp Ala
 1445 1450 1455
 Gly Asn Lys Val Cys Asn Leu Gln Cys Asn Asn His Ala Cys Gly
 Página 17

33

GENENLAW-#407984-v1-P4371R1_-_Spanish_translation_of_Sequence_Listing

1460	Trp Asp	Gly Gly	Asp Cys	Ser	Leu Asn	Phe Asn	Asp	Pro Trp	Lys
	1475			1480			1485		
	Asn Cys	Thr Gln	Ser Leu	Gln	Cys Trp	Lys Tyr	Phe	Ser Asp	Gly
	1490			1495			1500		
	His Cys	Asp Ser	Gln Cys	Asn	Ser Ala	Gly Cys	Leu	Phe Asp	Gly
	1505			1510			1515		
	Phe Asp	Cys Gln	Leu Thr	Glu	Gly Gln	Cys Asn	Pro	Leu Tyr	Asp
	1520			1525			1530		
	Gln Tyr	Cys Lys	Asp His	Phe	Ser Asp	Gly His	Cys	Asp Gln	Gly
	1535			1540			1545		
	Cys Asn	Ser Ala	Glu Cys	Glu	Trp Asp	Gly Leu	Asp	Cys Ala	Glu
	1550			1555			1560		
	His Val	Pro Glu	Arg Leu	Ala	Ala Gly	Thr Leu	Val	Leu Val	Val
	1565			1570			1575		
	Leu Leu	Pro Pro	Asp Gln	Leu	Arg Asn	Asn Ser	Phe	His Phe	Leu
	1580			1585			1590		
	Arg Glu	Leu Ser	His Val	Leu	His Thr	Asn Val	Val	Phe Lys	Arg
	1595			1600			1605		
	Asp Ala	Gln Gly	Gln Gln	Met	Ile Phe	Pro Tyr	Tyr	Gly His	Glu
	1610			1615			1620		
	Glu Glu	Leu Arg	Lys His	Pro	Ile Lys	Arg Ser	Thr	Val Gly	Trp
	1625			1630			1635		
	Ala Thr	Ser Ser	Leu Leu	Pro	Gly Thr	Ser Gly	Gly	Arg Gln	Arg
	1640			1645			1650		
	Arg Glu	Leu Asp	Pro Met	Asp	Ile Arg	Gly Ser	Ile	Val Tyr	Leu
	1655			1660			1665		
	Glu Ile	Asp Asn	Arg Gln	Cys	Val Gln	Ser Ser	Ser	Gln Cys	Phe
	1670			1675			1680		
	Gln Ser	Ala Thr	Asp Val	Ala	Ala Phe	Leu Gly	Ala	Leu Ala	Ser
	1685			1690			1695		

GENENLAW-#407984-v1-P4371R1_-_Spanish_translation_of_Sequence_Listing

Leu	Gly	Ser	Leu	Asn	Ile	Pro	Tyr	Lys	Ile	Glu	Ala	Val	Lys	Ser
1700						1705						1710		
Glu	Pro	Val	Glu	Pro	Pro	Leu	Pro	Ser	Gln	Leu	His	Leu	Met	Tyr
1715						1720					1725			
Val	Ala	Ala	Ala	Ala	Phe	Val	Leu	Leu	Phe	Phe	Val	Gly	Cys	Gly
1730						1735					1740			
Val	Leu	Leu	Ser	Arg	Lys	Arg	Arg	Arg	Gln	His	Gly	Gln	Leu	Trp
1745						1750					1755			
Phe	Pro	Glu	Gly	Phe	Lys	Val	Ser	Glu	Ala	Ser	Lys	Lys	Lys	Arg
1760						1765					1770			
Arg	Glu	Pro	Leu	Gly	Glu	Asp	Ser	Val	Gly	Leu	Lys	Pro	Leu	Lys
1775						1780					1785			
Asn	Ala	Ser	Asp	Gly	Ala	Leu	Met	Asp	Asp	Asn	Gln	Asn	Glu	Trp
1790						1795					1800			
Gly	Asp	Glu	Asp	Leu	Glu	Thr	Lys	Lys	Phe	Arg	Phe	Glu	Glu	Pro
1805						1810					1815			
Val	Val	Leu	Pro	Asp	Leu	Ser	Asp	Gln	Thr	Asp	His	Arg	Gln	Trp
1820						1825					1830			
Thr	Gln	Gln	His	Leu	Asp	Ala	Ala	Asp	Leu	Arg	Met	Ser	Ala	Met
1835						1840					1845			
Ala	Pro	Thr	Pro	Pro	Gln	Gly	Glu	Val	Asp	Ala	Asp	Cys	Met	Asp
1850						1855					1860			
Val	Asn	Val	Arg	Gly	Pro	Asp	Gly	Phe	Thr	Pro	Leu	Met	Ile	Ala
1865						1870					1875			
Ser	Cys	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Glu	Thr	Gly	Asn	Ser	Glu	Glu	Glu
1880						1885					1890			
Glu	Asp	Ala	Pro	Ala	Val	Ile	Ser	Asp	Phe	Ile	Tyr	Gln	Gly	Ala
1895						1900					1905			
Ser	Leu	His	Asn	Gln	Thr	Asp	Arg	Thr	Gly	Glu	Thr	Ala	Leu	His
1910						1915					1920			
Leu	Ala	Ala	Arg	Tyr	Ser	Arg	Ser	Asp	Ala	Ala	Lys	Arg	Leu	Leu
1925						1930					1935			

138

GENENLAW-#407984-v1-P4371R1_-_Spanish_translation_of_Sequence_Listing

Glu	Ala	Ser	Ala	Asp	Ala	Asn	Ile	Gln	Asp	Asn	Met	Gly	Arg	Thr
1940						1945					1950			
Pro	Leu	His	Ala	Ala	Val	Ser	Ala	Asp	Ala	Gln	Gly	Val	Phe	Gln
1955						1960					1965			
Ile	Leu	Leu	Arg	Asn	Arg	Ala	Thr	Asp	Leu	Asp	Ala	Arg	Met	His
1970						1975					1980			
Asp	Gly	Thr	Thr	Pro	Leu	Ile	Leu	Ala	Ala	Arg	Leu	Ala	Val	Glu
1985						1990					1995			
Gly	Met	Leu	Glu	Asp	Leu	Ile	Asn	Ser	His	Ala	Asp	Val	Asn	Ala
2000						2005					2010			
Val	Asp	Asp	Leu	Gly	Lys	Ser	Ala	Leu	His	Trp	Ala	Ala	Ala	Val
2015						2020					2025			
Asn	Asn	Val	Asp	Ala	Ala	Val	Val	Leu	Leu	Lys	Asn	Gly	Ala	Asn
2030						2035					2040			
Lys	Asp	Met	Gln	Asn	Asn	Lys	Glu	Glu	Thr	Pro	Leu	Phe	Leu	Ala
2045						2050					2055			
Ala	Arg	Glu	Gly	Ser	Tyr	Glu	Thr	Ala	Lys	Val	Leu	Leu	Asp	His
2060						2065					2070			
Phe	Ala	Asn	Arg	Asp	Ile	Thr	Asp	His	Met	Asp	Arg	Leu	Pro	Arg
2075						2080					2085			
Asp	Ile	Ala	Gln	Glu	Arg	Met	His	His	Asp	Ile	Val	Arg	Leu	Leu
2090						2095					2100			
Asp	Glu	Tyr	Asn	Leu	Val	Arg	Ser	Pro	Gln	Leu	His	Gly	Thr	Ala
2105						2110					2115			
Leu	Gly	Gly	Thr	Pro	Thr	Leu	Ser	Pro	Thr	Leu	Cys	Ser	Pro	Asn
2120						2125					2130			
Gly	Tyr	Leu	Gly	Asn	Leu	Lys	Ser	Ala	Thr	Gln	Gly	Lys	Lys	Ala
2135						2140					2145			
Arg	Lys	Pro	Ser	Thr	Lys	Gly	Leu	Ala	Cys	Gly	Ser	Lys	Glu	Ala
2150						2155					2160			
Lys	Asp	Leu	Lys	Ala	Arg	Arg	Lys	Lys	Ser	Gln	Asp	Gly	Lys	Gly
2165						2170					2175			

GENENLAW-#407984-v1-P4371R1_-_Spanish_translation_of_Sequence_Listing

Cys Leu Leu Asp Ser Ser Ser Met Leu Ser Pro Val Asp Ser Leu
2180 2185 2190

Glu Ser Pro His Gly Tyr Leu Ser Asp Val Ala Ser Pro Pro Leu
2195 2200 2205

Leu Pro Ser Pro Phe Gln Gln Ser Pro Ser Met Pro Leu Ser His
2210 2215 2220

Leu Pro Gly Met Pro Asp Thr His Leu Gly Ile Ser His Leu Asn
2225 2230 2235

Val Ala Ala Lys Pro Glu Met Ala Ala Leu Ala Gly Gly Ser Arg
2240 2245 2250

Leu Ala Phe Glu Pro Pro Pro Pro Arg Leu Ser His Leu Pro Val
2255 2260 2265

Ala Ser Ser Ala Ser Thr Val Leu Ser Thr Asn Gly Thr Gly Ala
2270 2275 2280

Met Asn Phe Thr Val Gly Ala Pro Ala Ser Leu Asn Gly Gln Cys
2285 2290 2295

Glu Trp Leu Pro Arg Leu Gln Asn Gly Met Val Pro Ser Gln Tyr
2300 2305 2310

Asn Pro Leu Arg Pro Gly Val Thr Pro Gly Thr Leu Ser Thr Gln
2315 2320 2325

Ala Ala Gly Leu Gln His Ser Met Met Gly Pro Leu His Ser Ser
2330 2335 2340

Leu Ser Thr Asn Thr Leu Ser Pro Ile Ile Tyr Gln Gly Leu Pro
2345 2350 2355

Asn Thr Arg Leu Ala Thr Gln Pro His Leu Val Gln Thr Gln Gln
2360 2365 2370

Val Gln Pro Gln Asn Leu Gln Leu Gln Pro Gln Asn Leu Gln Pro
2375 2380 2385

Pro Ser Gln Pro His Leu Ser Val Ser Ser Ala Ala Asn Gly His
2390 2395 2400

Leu Gly Arg Ser Phe Leu Ser Gly Glu Pro Ser Gln Ala Asp Val

GENENLAW-#407984-v1-P4371R1--_Spanish_translation_of_Sequence_Listing

Gln Pro Leu Gly Pro Ser Ser Leu Pro Val His Thr Ile Leu Pro
2405 2410 2415

Gln Glu Ser Gln Ala Leu Pro Thr Ser Leu Pro Ser Ser Met Val
2435 2440 2445

Pro Pro Met Thr Thr Thr Gln Phe Leu Thr Pro Pro Ser Gln His
2450 2455 2460

Ser Tyr Ser Ser Ser Pro Val Asp Asn Thr Pro Ser His Gln Leu
2465 2470 2475

Gln Val Pro Glu His Pro Phe Leu Thr Pro Ser Pro Glu Ser Pro
2480 2485 2490

Asp Gln Trp Ser Ser Ser Ser Pro His Ser Asn Ile Ser Asp Trp
2495 2500 2505

Ser Glu Gly Ile Ser Ser Pro Pro Thr Thr Met Pro Ser Gln Ile
2510 2515 2520

Thr His Ile Pro Glu Ala Phe Lys
2525 2530

<210> 3
<211> 2321
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 3
Met Gly Pro Gly Ala Arg Gly Arg Arg Arg Arg Arg Arg Pro Met Ser
1 5 10 15

Pro Pro Pro Pro Pro Pro Pro Val Arg Ala Leu Pro Leu Leu Leu Leu
20 25 30

Leu Ala Gly Pro Gly Ala Ala Ala Pro Pro Cys Leu Asp Gly Ser Pro
35 40 45

Cys Ala Asn Gly Gly Arg Cys Thr Gln Leu Pro Ser Arg Glu Ala Ala
50 55 60

Cys Leu Cys Pro Pro Gly Trp Val Gly Glu Arg Cys Gln Leu Glu Asp
65 70 75 80

Pro Cys His Ser Gly Pro Cys Ala Gly Arg Gly Val Cys Gln Ser Ser
85 90 95

GENENLAW-#407984-v1-P4371R1_-_Spanish_translation_of_Sequence_Listing

Val Val Ala Gly Thr Ala Arg Phe Ser Cys Arg Cys Pro Arg Gly Phe
100 105 110

Arg Gly Pro Asp Cys Ser Leu Pro Asp Pro Cys Leu Ser Ser Pro Cys
115 120 125

Ala His Gly Ala Arg Cys Ser Val Gly Pro Asp Gly Arg Phe Leu Cys
130 135 140

Ser Cys Pro Pro Gly Tyr Gln Gly Arg Ser Cys Arg Ser Asp Val Asp
145 150 155 160

Glu Cys Arg Val Gly Glu Pro Cys Arg His Gly Gly Thr Cys Leu Asn
165 170 175

Thr Pro Gly Ser Phe Arg Cys Gln Cys Pro Ala Gly Tyr Thr Gly Pro
180 185 190

Leu Cys Glu Asn Pro Ala Val Pro Cys Ala Pro Ser Pro Cys Arg Asn
195 200 205

Gly Gly Thr Cys Arg Gln Ser Gly Asp Leu Thr Tyr Asp Cys Ala Cys
210 215 220

Leu Pro Gly Phe Glu Gly Gln Asn Cys Glu Val Asn Val Asp Asp Cys
225 230 235 240

Pro Gly His Arg Cys Leu Asn Gly Gly Thr Cys Val Asp Gly Val Asn
245 250 255

Thr Tyr Asn Cys Gln Cys Pro Pro Glu Trp Thr Gly Gln Phe Cys Thr
260 265 270

Glu Asp Val Asp Glu Cys Gln Leu Gln Pro Asn Ala Cys His Asn Gly
275 280 285

Gly Thr Cys Phe Asn Thr Leu Gly Gly His Ser Cys Val Cys Val Asn
290 295 300

Gly Trp Thr Gly Glu Ser Cys Ser Gln Asn Ile Asp Asp Cys Ala Thr
305 310 315 320

Ala Val Cys Phe His Gly Ala Thr Cys His Asp Arg Val Ala Ser Phe
325 330 335

Tyr Cys Ala Cys Pro Met Gly Lys Thr Gly Leu Leu Cys His Leu Asp

GENENLAW-#407984-v1-P4371R1_-_Spanish_translation_of_Sequence_Listing

Asp Ala Cys Val Ser Asn Pro Cys His Glu Asp Ala Ile Cys Asp Thr
 340 355 360 365
 Asn Pro Val Asn Gly Arg Ala Ile Cys Thr Cys Pro Pro Gly Phe Thr
 370 375 380
 Gly Gly Ala Cys Asp Gln Asp Val Asp Glu Cys Ser Ile Gly Ala Asn
 385 390 395 400
 Pro Cys Glu His Leu Gly Arg Cys Val Asn Thr Gln Gly Ser Phe Leu
 405 410 415
 Cys Gln Cys Gly Arg Gly Tyr Thr Gly Pro Arg Cys Glu Thr Asp Val
 420 425 430
 Asn Glu Cys Leu Ser Gly Pro Cys Arg Asn Gln Ala Thr Cys Leu Asp
 435 440 445
 Arg Ile Gly Gln Phe Thr Cys Ile Cys Met Ala Gly Phe Thr Gly Thr
 450 455 460
 Tyr Cys Glu Val Asp Ile Asp Glu Cys Gln Ser Ser Pro Cys Val Asn
 465 470 475 480
 Gly Gly Val Cys Lys Asp Arg Val Asn Gly Phe Ser Cys Thr Cys Pro
 485 490 495
 Ser Gly Phe Ser Gly Ser Thr Cys Gln Leu Asp Val Asp Glu Cys Ala
 500 505 510
 Ser Thr Pro Cys Arg Asn Gly Ala Lys Cys Val Asp Gln Pro Asp Gly
 515 520 525
 Tyr Glu Cys Arg Cys Ala Glu Gly Phe Glu Gly Thr Leu Cys Asp Arg
 530 535 540
 Asn Val Asp Asp Cys Ser Pro Asp Pro Cys His His Gly Arg Cys Val
 545 550 555 560
 Asp Gly Ile Ala Ser Phe Ser Cys Ala Cys Ala Pro Gly Tyr Thr Gly
 565 570 575
 Thr Arg Cys Glu Ser Gln Val Asp Glu Cys Arg Ser Gln Pro Cys Arg
 580 585 590

GENENLAW-#407984-v1-P4371R1_-_Spanish_translation_of_Sequence_Listing

His Gly Gly Lys Cys Leu Asp Leu Val Asp Lys Tyr Leu Cys Arg Cys
595 600 605

Pro Ser Gly Thr Thr Gly Val Asn Cys Glu Val Asn Ile Asp Asp Cys
610 615 620

Ala Ser Asn Pro Cys Thr Phe Gly Val Cys Arg Asp Gly Ile Asn Arg
625 630 635 640

Tyr Asp Cys Val Cys Gln Pro Gly Phe Thr Gly Pro Leu Cys Asn Val
645 650 655

Glu Ile Asn Glu Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gly Glu Gly Gly Ser Cys
660 665 670

Val Asp Gly Glu Asn Gly Phe Arg Cys Leu Cys Pro Pro Gly Ser Leu
675 680 685

Pro Pro Leu Cys Leu Pro Pro Ser His Pro Cys Ala His Glu Pro Cys
690 695 700

Ser His Gly Ile Cys Tyr Asp Ala Pro Gly Gly Phe Arg Cys Val Cys
705 710 715 720

Glu Pro Gly Trp Ser Gly Pro Arg Cys Ser Gln Ser Leu Ala Arg Asp
725 730 735

Ala Cys Glu Ser Gln Pro Cys Arg Ala Gly Gly Thr Cys Ser Ser Asp
740 745 750

Gly Met Gly Phe His Cys Thr Cys Pro Pro Gly Val Gln Gly Arg Gln
755 760 765

Cys Glu Leu Leu Ser Pro Cys Thr Pro Asn Pro Cys Glu His Gly Gly
770 775 780

Arg Cys Glu Ser Ala Pro Gly Gln Leu Pro Val Cys Ser Cys Pro Gln
785 790 795 800

Gly Trp Gln Gly Pro Arg Cys Gln Gln Asp Val Asp Glu Cys Ala Gly
805 810 815

Pro Ala Pro Cys Gly Pro His Gly Ile Cys Thr Asn Leu Ala Gly Ser
820 825 830

Phe Ser Cys Thr Cys His Gly Gly Tyr Thr Gly Pro Ser Cys Asp Gln
835 840 845

GENENLAW-#407984-v1-P4371R1_-_Spanish_translation_of_Sequence_Listing

Asp Ile Asn Asp Cys Asp Pro Asn Pro Cys Leu Asn Gly Gly Ser Cys
 850 855 860

Gln Asp Gly Val Gly Ser Phe Ser Cys Ser Cys Leu Pro Gly Phe Ala
 865 870 875 880

Gly Pro Arg Cys Ala Arg Asp Val Asp Glu Cys Leu Ser Asn Pro Cys
 885 890 895

Gly Pro Gly Thr Cys Thr Asp His Val Ala Ser Phe Thr Cys Thr Cys
 900 905 910

Pro Pro Gly Tyr Gly Gly Phe His Cys Glu Gln Asp Leu Pro Asp Cys
 915 920 925

Ser Pro Ser Ser Cys Phe Asn Gly Gly Thr Cys Val Asp Gly Val Asn
 930 935 940

Ser Phe Ser Cys Leu Cys Arg Pro Gly Tyr Thr Gly Ala His Cys Gln
 945 950 955 960

His Glu Ala Asp Pro Cys Leu Ser Arg Pro Cys Leu His Gly Gly Val
 965 970 975

Cys Ser Ala Ala His Pro Gly Phe Arg Cys Thr Cys Leu Glu Ser Phe
 980 985 990

Thr Gly Pro Gln Cys Gln Thr Leu Val Asp Trp Cys Ser Arg Gln Pro
 995 1000 1005

Cys Gln Asn Gly Gly Arg Cys Val Gln Thr Gly Ala Tyr Cys Leu
 1010 1015 1020

Cys Pro Pro Gly Trp Ser Gly Arg Leu Cys Asp Ile Arg Ser Leu
 1025 1030 1035

Pro Cys Arg Glu Ala Ala Ala Gln Ile Gly Val Arg Leu Glu Gln
 1040 1045 1050

Leu Cys Gln Ala Gly Gly Gln Cys Val Asp Glu Asp Ser Ser His
 1055 1060 1065

Tyr Cys Val Cys Pro Glu Gly Arg Thr Gly Ser His Cys Glu Gln
 1070 1075 1080

Glu Val Asp Pro Cys Leu Ala Gln Pro Cys Gln His Gly Gly Thr
 1085 1090 1095

GENENLAW-#407984-v1-P4371R1_-_Spanish_translation_of_Sequence_Listing

Cys Arg Gly Tyr Met Gly Gly Tyr Met Cys Glu Cys Leu Pro Gly
 1100 1105 1110
 Tyr Asn Gly Asp Asn Cys Glu Asp Asp Val Asp Glu Cys Ala Ser
 1115 1120 1125
 Gln Pro Cys Gln His Gly Gly Ser Cys Ile Asp Leu Val Ala Arg
 1130 1135 1140
 Tyr Leu Cys Ser Cys Pro Pro Gly Thr Leu Gly Val Leu Cys Glu
 1145 1150 1155
 Ile Asn Glu Asp Asp Cys Gly Pro Gly Pro Pro Leu Asp Ser Gly
 1160 1165 1170
 Pro Arg Cys Leu His Asn Gly Thr Cys Val Asp Leu Val Gly Gly
 1175 1180 1185
 Phe Arg Cys Thr Cys Pro Pro Gly Tyr Thr Gly Leu Arg Cys Glu
 1190 1195 1200
 Ala Asp Ile Asn Glu Cys Arg Ser Gly Ala Cys His Ala Ala His
 1205 1210 1215
 Thr Arg Asp Cys Leu Gln Asp Pro Gly Gly Gly Phe Arg Cys Leu
 1220 1225 1230
 Cys His Ala Gly Phe Ser Gly Pro Arg Cys Gln Thr Val Leu Ser
 1235 1240 1245
 Pro Cys Glu Ser Gln Pro Cys Gln His Gly Gly Gln Cys Arg Pro
 1250 1255 1260
 Ser Pro Gly Pro Gly Gly Gly Leu Thr Phe Thr Cys His Cys Ala
 1265 1270 1275
 Gln Pro Phe Trp Gly Pro Arg Cys Glu Arg Val Ala Arg Ser Cys
 1280 1285 1290
 Arg Glu Leu Gln Cys Pro Val Gly Val Pro Cys Gln Gln Thr Pro
 1295 1300 1305
 Arg Gly Pro Arg Cys Ala Cys Pro Pro Gly Leu Ser Gly Pro Ser
 1310 1315 1320
 Cys Arg Ser Phe Pro Gly Ser Pro Pro Gly Ala Ser Asn Ala Ser
 Página 27

GENENLAW-#407984-v1-P4371R1_-_Spanish_translation_of_Sequence_Listing

1325	Cys Ala	Ala Ala	Pro Cys	Leu	His Gly	Gly Ser	Cys	Arg Pro	Ala
	1340			1345			1350		
Pro Leu	Ala Pro	Phe Phe	Arg	Cys Ala	Cys Ala	Gln	Gly Trp	Thr	
1355			1360			1365			
Gly Pro	Arg Cys	Glu Ala	Pro	Ala Ala	Ala Pro	Glu	Val Ser	Glu	
1370			1375			1380			
Glu Pro	Arg Cys	Pro Arg	Ala	Ala Cys	Gln Ala	Lys	Arg Gly	Asp	
1385			1390			1395			
Gln Arg	Cys Asp	Arg Glu	Cys	Asn Ser	Pro Gly	Cys	Gly Trp	Asp	
1400			1405			1410			
Gly Gly	Asp Cys	Ser Leu	Ser	Val Gly	Asp Pro	Trp	Arg Gln	Cys	
1415			1420			1425			
Glu Ala	Leu Gln	Cys Trp	Arg	Leu Phe	Asn Asn	Ser	Arg Cys	Asp	
1430			1435			1440			
Pro Ala	Cys Ser	Ser Pro	Ala	Cys Leu	Tyr Asp	Asn	Phe Asp	Cys	
1445			1450			1455			
His Ala	Gly Gly	Arg Glu	Arg	Thr Cys	Asn Pro	Val	Tyr Glu	Lys	
1460			1465			1470			
Tyr Cys	Ala Asp	His Phe	Ala	Asp Gly	Arg Cys	Asp	Gln Gly	Cys	
1475			1480			1485			
Asn Thr	Glu Glu	Cys Gly	Trp	Asp Gly	Leu Asp	Cys	Ala Ser	Glu	
1490			1495			1500			
Val Pro	Ala Leu	Leu Ala	Arg	Gly Val	Leu Val	Leu	Thr Val	Leu	
1505			1510			1515			
Leu Pro	Pro Glu	Glu Leu	Leu	Arg Ser	Ser Ala	Asp	Phe Leu	Gln	
1520			1525			1530			
Arg Leu	Ser Ala	Ile Leu	Arg	Thr Ser	Leu Arg	Phe	Arg Leu	Asp	
1535			1540			1545			
Ala His	Gly Gln	Ala Met	Val	Phe Pro	Tyr His	Arg	Pro Ser	Pro	
1550			1555			1560			

GENENLAW-#407984-v1-P4371R1_-_Spanish_translation_of_Sequence_Listing

Gly	Ser	Glu	Pro	Arg	Ala	Arg	Arg	Glu	Leu	Ala	Pro	Glu	Val	Ile
1565						1570					1575			
Gly	Ser	Val	Val	Met	Leu	Glu	Ile	Asp	Asn	Arg	Leu	Cys	Leu	Gln
1580						1585					1590			
Ser	Pro	Glu	Asn	Asp	His	Cys	Phe	Pro	Asp	Ala	Gln	Ser	Ala	Ala
1595						1600					1605			
Asp	Tyr	Leu	Gly	Ala	Leu	Ser	Ala	Val	Glu	Arg	Leu	Asp	Phe	Pro
1610						1615					1620			
Tyr	Pro	Leu	Arg	Asp	Val	Arg	Gly	Glu	Pro	Leu	Glu	Pro	Pro	Glu
1625						1630					1635			
Pro	Ser	Val	Pro	Leu	Leu	Pro	Leu	Leu	Val	Ala	Gly	Ala	Val	Leu
1640						1645					1650			
Leu	Leu	Val	Ile	Leu	Val	Leu	Gly	Val	Met	Val	Ala	Arg	Arg	Lys
1655						1660					1665			
Arg	Glu	His	Ser	Thr	Leu	Trp	Phe	Pro	Glu	Gly	Phe	Ser	Leu	His
1670						1675					1680			
Lys	Asp	Val	Ala	Ser	Gly	His	Lys	Gly	Arg	Arg	Glu	Pro	Val	Gly
1685						1690					1695			
Gln	Asp	Ala	Leu	Gly	Met	Lys	Asn	Met	Ala	Lys	Gly	Glu	Ser	Leu
1700						1705					1710			
Met	Gly	Glu	Val	Ala	Thr	Asp	Trp	Met	Asp	Thr	Glu	Cys	Pro	Glu
1715						1720					1725			
Ala	Lys	Arg	Leu	Lys	Val	Glu	Glu	Pro	Gly	Met	Gly	Ala	Glu	Glu
1730						1735					1740			
Ala	Val	Asp	Cys	Arg	Gln	Trp	Thr	Gln	His	His	Leu	Val	Ala	Ala
1745						1750					1755			
Asp	Ile	Arg	Val	Ala	Pro	Ala	Met	Ala	Leu	Thr	Pro	Pro	Gln	Gly
1760						1765					1770			
Asp	Ala	Asp	Ala	Asp	Gly	Met	Asp	Val	Asn	Val	Arg	Gly	Pro	Asp
1775						1780					1785			
Gly	Phe	Thr	Pro	Leu	Met	Leu	Ala	Ser	Phe	Cys	Gly	Gly	Ala	Leu
1790						1795					1800			

145

GENENLAW-#407984-v1-P4371R1_-_Spanish_translation_of_Sequence_Listing

Glu	Pro	Met	Pro	Thr	Glu	Glu	Asp	Glu	Ala	Asp	Asp	Thr	Ser	Ala
	1805					1810					1815			
Ser	Ile	Ile	Ser	Asp	Leu	Ile	Cys	Gln	Gly	Ala	Gln	Leu	Gly	Ala
	1820					1825					1830			
Arg	Thr	Asp	Arg	Thr	Gly	Glu	Thr	Ala	Leu	His	Leu	Ala	Ala	Arg
	1835					1840					1845			
Tyr	Ala	Arg	Ala	Asp	Ala	Ala	Lys	Arg	Leu	Leu	Asp	Ala	Gly	Ala
	1850					1855					1860			
Asp	Thr	Asn	Ala	Gln	Asp	His	Ser	Gly	Arg	Thr	Pro	Leu	His	Thr
	1865					1870					1875			
Ala	Val	Thr	Ala	Asp	Ala	Gln	Gly	Val	Phe	Gln	Ile	Leu	Ile	Arg
	1880					1885					1890			
Asn	Arg	Ser	Thr	Asp	Leu	Asp	Ala	Arg	Met	Ala	Asp	Gly	Ser	Thr
	1895					1900					1905			
Ala	Leu	Ile	Leu	Ala	Ala	Arg	Leu	Ala	Val	Glu	Gly	Met	Val	Glu
	1910					1915					1920			
Glu	Leu	Ile	Ala	Ser	His	Ala	Asp	Val	Asn	Ala	Val	Asp	Glu	Leu
	1925					1930					1935			
Gly	Lys	Ser	Ala	Leu	His	Trp	Ala	Ala	Ala	Val	Asn	Asn	Val	Glu
	1940					1945					1950			
Ala	Thr	Leu	Ala	Leu	Leu	Lys	Asn	Gly	Ala	Asn	Lys	Asp	Met	Gln
	1955					1960					1965			
Asp	Ser	Lys	Glu	Glu	Thr	Pro	Leu	Phe	Leu	Ala	Ala	Arg	Glu	Gly
	1970					1975					1980			
Ser	Tyr	Glu	Ala	Ala	Lys	Leu	Leu	Leu	Asp	His	Phe	Ala	Asn	Arg
	1985					1990					1995			
Glu	Ile	Thr	Asp	His	Leu	Asp	Arg	Leu	Pro	Arg	Asp	Val	Ala	Gln
	2000					2005					2010			
Glu	Arg	Leu	His	Gln	Asp	Ile	Val	Arg	Leu	Leu	Asp	Gln	Pro	Ser
	2015					2020					2025			
Gly	Pro	Arg	Ser	Pro	Pro	Gly	Pro	His	Gly	Leu	Gly	Pro	Leu	Leu
	2030					2035					2040			

GENENLAW-#407984-v1-P4371R1_-_Spanish_translation_of_Sequence_Listing

Cys	Pro	Pro	Gly	Ala	Phe	Leu	Pro	Gly	Leu	Lys	Ala	Ala	Gln	Ser
2045						2050					2055			
Gly	Ser	Lys	Lys	Ser	Arg	Arg	Pro	Pro	Gly	Lys	Ala	Gly	Leu	Gly
2060						2065					2070			
Pro	Gln	Gly	Pro	Arg	Gly	Arg	Gly	Lys	Lys	Leu	Thr	Leu	Ala	Cys
2075						2080					2085			
Pro	Gly	Pro	Leu	Ala	Asp	Ser	Ser	Val	Thr	Leu	Ser	Pro	Val	Asp
2090						2095					2100			
Ser	Leu	Asp	Ser	Pro	Arg	Pro	Phe	Gly	Gly	Pro	Pro	Ala	Ser	Pro
2105						2110					2115			
Gly	Gly	Phe	Pro	Leu	Glu	Gly	Pro	Tyr	Ala	Ala	Ala	Thr	Ala	Thr
2120						2125					2130			
Ala	Val	Ser	Leu	Ala	Gln	Leu	Gly	Gly	Pro	Gly	Arg	Ala	Gly	Leu
2135						2140					2145			
Gly	Arg	Gln	Pro	Pro	Gly	Gly	Cys	Val	Leu	Ser	Leu	Gly	Leu	Leu
2150						2155					2160			
Asn	Pro	Val	Ala	Val	Pro	Leu	Asp	Trp	Ala	Arg	Leu	Pro	Pro	Pro
2165						2170					2175			
Ala	Pro	Pro	Gly	Pro	Ser	Phe	Leu	Leu	Pro	Leu	Ala	Pro	Gly	Pro
2180						2185					2190			
Gln	Leu	Leu	Asn	Pro	Gly	Thr	Pro	Val	Ser	Pro	Gln	Glu	Arg	Pro
2195						2200					2205			
Pro	Pro	Tyr	Leu	Ala	Val	Pro	Gly	His	Gly	Glu	Glu	Tyr	Pro	Val
2210						2215					2220			
Ala	Gly	Ala	His	Ser	Ser	Pro	Pro	Lys	Ala	Arg	Phe	Leu	Arg	Val
2225						2230					2235			
Pro	Ser	Glu	His	Pro	Tyr	Leu	Thr	Pro	Ser	Pro	Glu	Ser	Pro	Glu
2240						2245					2250			
His	Trp	Ala	Ser	Pro	Ser	Pro	Pro	Ser	Leu	Ser	Asp	Trp	Ser	Glu
2255						2260					2265			
Ser	Thr	Pro	Ser	Pro	Ala	Thr	Ala	Thr	Gly	Ala	Met	Ala	Thr	Thr

GENENLAW-#407984-v1-P4371R1_-_Spanish_translation_of_Sequence_Listing
2270 2275 2280

Thr Gly Ala Leu Pro Ala Gln Pro Leu Pro Leu Ser Val Pro Ser
2285 2290 2295

Ser Leu Ala Gln Ala Gln Thr Gln Leu Gly Pro Gln Pro Glu Val
2300 2305 2310

Thr Pro Lys Arg Gln Val Leu Ala
2315 2320

<210> 4
<211> 14
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido Sintético

<400> 4
Val Met Val Ala Arg Arg Lys Arg Glu His Ser Thr Leu Trp
1 5 10

AB: 99908
149

State of California

SECRETARY OF STATE

APOSTILLE

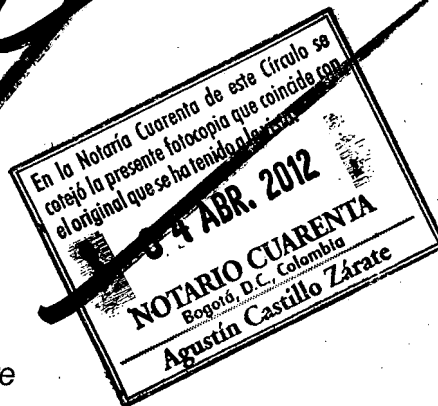
(Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

1. Country: United States of America
This public document
2. has been signed by AIDA MICLAT GUIAM
3. acting in the capacity of Notary Public, State of California
4. bears the seal/stamp of AIDA MICLAT GUIAM, Notary Public,
State of California

CERTIFIED

5. At Sacramento, California
6. the 15th day of December 2005
7. by Deputy Secretary of State, State of California
8. No. 267083
9. Seal/Stamp:

10. Signature



Ernesto M. Chumbe

Secretary of State

[Signature]

BY

OSP 05 90772



CALIFORNIA ALL-PURPOSE ACKNOWLEDGMENT

State of California

County of

San Mateo

ss.

On December 6, 2005

Date

before me,

Aida Mielat Guiam

Name and Title of Officer (e.g., "Jane Doe, Notary Public")

personally appeared

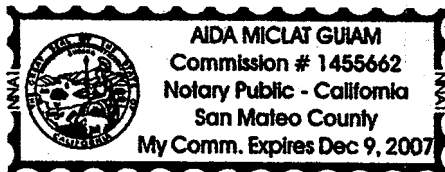
Timothy R. Schwartz

Name(s) of Signer(s)

☐ personally known to me

☒ proved to me on the basis of satisfactory evidence

to be the person(s) whose name(s) is/are subscribed to the within instrument and acknowledged to me that he/she/they executed the same in his/her/their authorized capacity(ies), and that by his/her/their signature(s) on the instrument the person(s), or the entity upon behalf of which the person(s) acted, executed the instrument.



WITNESS my hand and official seal.

Aida Mielat Guiam

Signature of Notary Public

OPTIONAL

Though the information below is not required by law, it may prove valuable to persons relying on the document and could prevent fraudulent removal and reattachment of this form to another document.

Description of Attached Document

Title or Type of Document:

Document Date:

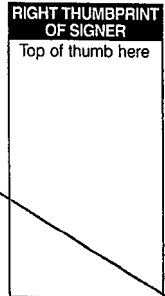
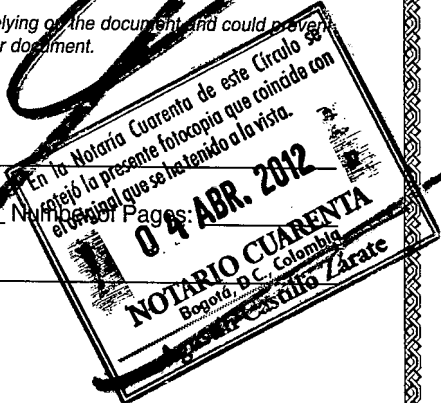
Signer(s) Other Than Named Above:

Capacity(ies) Claimed by Signer

Signer's Name:

- ☐ Individual
- ☐ Corporate Officer — Title(s):
- ☐ Partner — ☐ Limited ☐ General
- ☐ Attorney-in-Fact
- ☐ Trustee
- ☐ Guardian or Conservator
- ☐ Other:

Signer Is Representing:



Brigard & Castro

BOGOTA - COLOMBIA

PODER

POWER OF ATTORNEY

Yo (nosotros)

I (We)

Genentech, Inc.

1 DNA Way

domiciliado(s) en

domiciled in

South San Francisco, California 94080-4990
USA

Nombro(amos) a: **JUAN PABLO CADENA SARMIENTO** y/o **BEATRIZ JARAMILLO** y/o **CARLOS H. PALACIO EASTMAN** y/o **HECTOR GOMEZ MEJIA**, de Bogotá, Colombia, apoderados verdaderos y legales con poder especial, amplio y suficiente, para recabar de las oficinas y autoridades colombianas administrativas, judiciales y de policía, en cualquier instancia o recurso, la obtención de patentes de invención, registros de marcas, diseños industriales, modelos de utilidad, depósitos de nombres comerciales y enseññas, registros de derechos de autor y contratos sobre los mismos, obtención de certificados de obtentor de variedades vegetales, así como sus prórrogas, renovaciones, anotaciones de traspaso, cambios de nombre y/o domicilio; elaborar, tramitar y registrar contratos de licencia y licencias de cualesquiera clases; intervenir como demandante o como demandado en cualquier instancia y recurso ante cualquier juez, corporación, funcionario público o autoridad en acciones judiciales, administrativas y de policía tales como: oposiciones al registro de marcas; acciones de caducidad, cancelación y nulidad; acciones reivindicatorias, acciones derivadas de la obtención o explotación de licencias; acciones de competencia desleal; demandas penales; acciones de indemnización de perjuicios, reclamos y observaciones a solicitudes de patentes, diseños industriales, modelos de utilidad, en el ejercicio de medidas cautelares y en otras acciones y medidas similares.

A este efecto, lo(s) faculto(amos) para elevar a las autoridades formular descripciones, enmiendas, declaraciones, oposiciones, cancelaciones, apelaciones y reclamos; pagar impuestos, gravámenes prescritos por la ley; renunciar 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 mis (nuestros intereses), con todas las demás facultades legales necesarias.

Este poder comprende la facultad de ratificar o confirmar en mi (nuestro) nombre lo actuado así como la facultad de desistir, transigir, comprometer, y la de sustituirlo en todo o en parte y revocar sustituciones. Asimismo nombro(amos) a: **JUAN PABLO CADENA SARMIENTO** y/o **BEATRIZ JARAMILLO** y/o **CARLOS H. PALACIO EASTMAN** y/o **HECTOR GOMEZ MEJIA**, domiciliado(s) en la Carrera 7 No. 16-56 Piso 9, mis (nuestros) apoderados en Colombia, con facultades para recibir notificaciones y designar apoderados judiciales o extrajudiciales.

Otorgado y firmado en

hoy de de 200

Firma

Nombre
Cargo

Hereby appoints **JUAN PABLO CADENA SARMIENTO** and/or **BEATRIZ JARAMILLO** and/or **CARLOS H. PALACIO EASTMAN** and/or **HECTOR GOMEZ MEJIA**, of Bogotá, Colombia, my (our) true and lawful attorneys with special, ample and sufficient power to obtain from the Colombian administrative, judicial and police offices and authorities, in any instance, privileges of patents of invention, registration of trademarks, industrial designs and utility models; registration of commercial names and emblems, registration of copyright and contracts related thereto, certificates of obtainers of vegetables varieties, as well as extensions, renewals and recordal of assignments and changes of name and domicile related to the above; to prepare, prosecute and register licenses of any kind; to act as plaintiff or defendant in any instance or recourse, and before any judge, corporation, public official or authority in judicial, administrative and police actions, such as: oppositions to the registration of trademarks; caducity, cancellation and nullity actions; claim actions derived from the obtaining or exploitation of licenses, action of unfair competition; criminal proceedings, actions for payment of damages, claims or observations on patent applications, models, industrial designs and utility models; in the exercise of preventive measures and in other actions or similar proceedings.

to that effect they hereby empowered to file applications, formulate descriptions, amendments, protests, declarations, oppositions, cancellations, nullities, appeals and claims; to pay taxes, quotas and assessments prescribed by law, announce or waive the rights granted or in the process of granting; to receive all kinds of documents and valuables, giving the respective release of receipt, and, in general, to take before said authorities the necessary steps to such effect, and any measures that they may deem pertinent to the safeguard of my (our) interest(s) with all the other necessary legal powers.

This power includes the faculty to ratify or confirm desist, settle and compromise on my (our) behalf, and to substitute this power in whole or in part and to revoke substitutions. At the same time I (We) hereby appoints **JUAN PABLO CADENA SARMIENTO** and/or **BEATRIZ JARAMILLO** and/or **CARLOS H. PALACIO EASTMAN** and/or **HECTOR GOMEZ MEJIA**, domiciled in Carrera 7 No. 16-56, Piso 9, my (our) attorney(s) in fact, with powers to receive notifications and to designate judicial and extrajudicial attorneys.

South San Francisco, California

Granted and signed in USA

this 6th day of December 2005

Signature

Name Timothy R. Schwartz, Ph.D.
Title Section Patent Counsel
Authorized Corporate Signatory
Genentech, Inc.

AUTHORIZATION

Genentech, Inc. hereby authorizes any of Janet E. Hasak, Mark T. Kresnak, Jeffrey S. Kubinec and Timothy R. Schwartz, for so long as they remain employees of Genentech, Inc., to execute, on its behalf, any submissions associated with the filing, prosecution, granting, and extension and maintenance of grant of patent and trademark applications in the U.S. and foreign countries, contracts relating to biological deposits with the American Type Culture Collection, and assignments to publishers of copyrights covering works authored by Genentech employees.

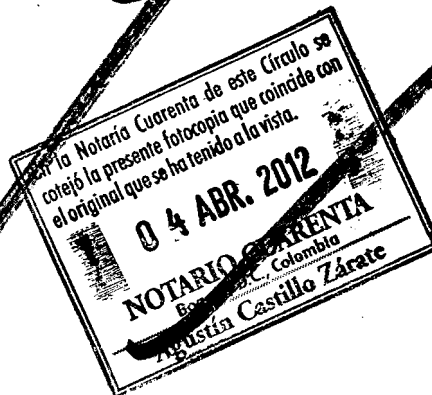
August 27, 2002

Dated

Sean Johnston

Sean A. Johnston

Vice President, Intellectual Property
Genentech, Inc.



93 33 152

TRADUCCION AL ESPAÑOL del Documento de Poder otorgado por **Genentech, Inc.** domiciliada en **1 DNA Way, South San Francisco, California 94080-4990, Estados Unidos de América.**

ESTADO DE CALIFORNIA
SECRETARIA DE ESTADO

APOSTILLA

(Convención de La Haya del 5 de Octubre de 1961)

1. País: Estados Unidos de América
Esta documento público
2. ha sido firmado por AIDA MICLAT GUIAM
3. actuando en capacidad de Notario Público, Estado de California
4. lleva el sello/timbre de AIDA MICLAT GUIAM, Notario Público
Estado de California

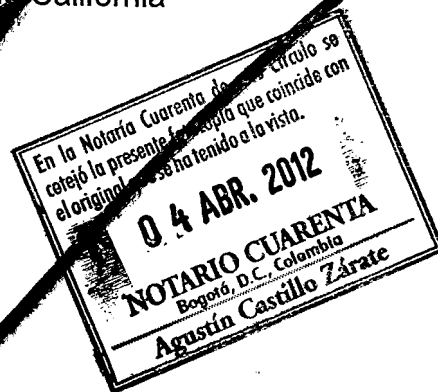
CERTIFICADO

5. en Sacramento, California
6. el 15 de diciembre de 2005
7. por el Secretario de Estado Delegado, Estado de California
8. No. 267083
9. Sello/Timbre

10. Firma

(Firma)

Secretario de Estado



153

Huella Índice
derecho del firmante
Parte alta del dedo aquí

AUTORIZACION

Genentech, Inc. por la presente autoriza a cualquiera de Janet E. Hasak, Mark T. Kresnak, Jeffrey S. Kubinec y Thomity R. Schwartz, mientras permanezcan como empleados de Genentech, Inc., a ejecutar, a su nombre, cualquier solicitud asociada con presentación, procesamiento, consecución, y extensión y mantenimiento de concesión de solicitudes de patente y marca registrada en los Estados Unidos y países extranjeros, contratos relacionados con depósitos biológicos con la Colección Americana de Tipo de Cultivo, y cesiones a publicistas de derechos de autor que cubran los trabajos de autoría de los empleados de Genentech.

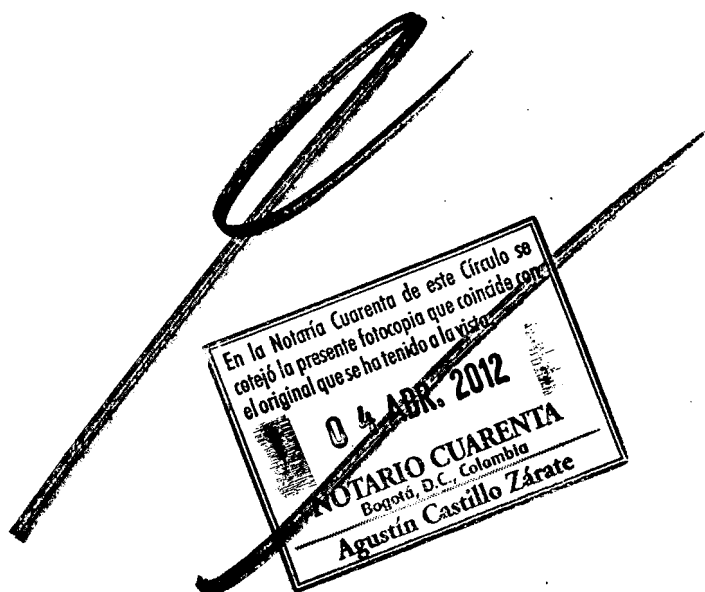
27 de Agosto de 2002

Fechado

(Firma)

Sean A. Johnston

Vicepresidente, Propiedad Intelectual
Genentech, Inc.



77.200
158

Apostille

(Convention de La Haye du 5 Octobre 1961)

1. Country: United States of America

This public document:

2. has been signed by Harriet Smith Windsor

3. acting in the capacity of Secretary of State of Delaware

4. bears the seal/stamp of Office of Secretary of State

Certified

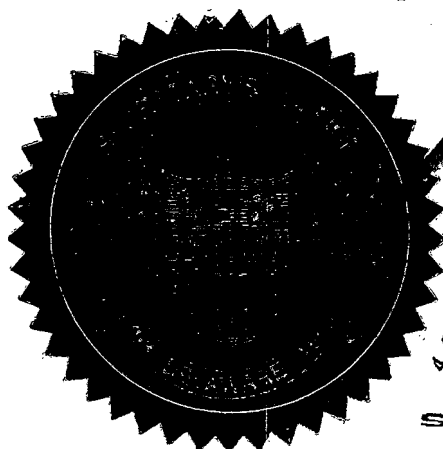
5. at Dover, Delaware

6. the twenty-fourth day of May, A.D. 2005

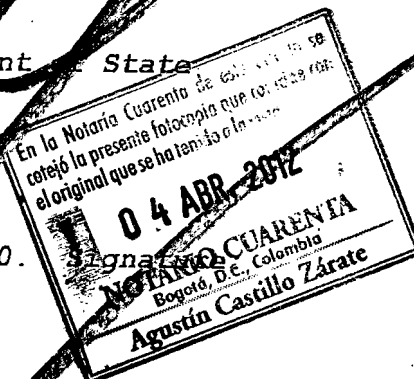
7. by Secretary of State, Delaware Department of State

8. No. 0254030

9. Seal/Stamp:



10.



Harriet Smith Windsor

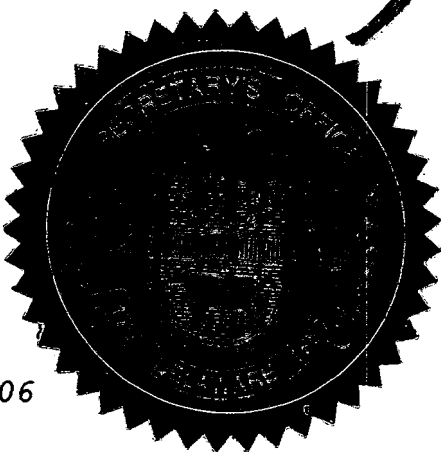
Secretary of State

Delaware

PAGE 1

The First State

I, HARRIET SMITH WINDSOR, SECRETARY OF STATE OF THE STATE OF DELAWARE, DO HEREBY CERTIFY THE ATTACHED IS A TRUE AND CORRECT COPY OF THE RESTATED CERTIFICATE OF "GENENTECH, INC.", FILED IN THIS OFFICE ON THE TWENTY-SECOND DAY OF JULY, A.D. 1999, AT 9 O'CLOCK A.M.



2112549

050426506



Harriet Smith Windsor

Harriet Smith Windsor, Secretary of State
AUTHENTICATION: 3900384

DATE: 05-24-05

157

AMENDED AND RESTATED
CERTIFICATE OF INCORPORATION
GENENTECH, INC.

Genentech, Inc. (the "Corporation"), a corporation organized and existing under and by virtue of the General Corporation Law of the State of Delaware, does hereby amend the Certificate of Incorporation of the Corporation, which was originally filed on December 23, 1986 under the name "Genentech Delaware, Inc.", and subsequently amended.

The Certificate of Incorporation of the Corporation is hereby restated and further amended to read in its entirety as follows:

ARTICLE 1

The name of the Corporation is: Genentech, Inc.

ARTICLE 2

The address of the registered office of the Corporation in the State of Delaware is Corporation Service Company, 1013 Centre Road, City of Wilmington, County of New Castle, Delaware 19805. The name of its registered agent at such address is Corporation Service Company.

ARTICLE 3

The purpose of the Corporation is to engage in any lawful act or activity for which corporations may be organized under the General Corporation Law of the State of Delaware as the same exists or may hereafter be amended ("Delaware Law").



STATE OF DELAWARE
SECRETARY OF STATE
DIVISION OF CORPORATIONS
FILED 09:00 AM 07/22/1999
991302331 - 2112549

ARTICLE 4

SECTION 4.01. *Capital Stock.* (a) The Corporation is authorized to issue two classes of stock to be designated, respectively, preferred stock and common stock. The total number of shares which the Corporation is authorized to issue is four hundred million (400,000,000) shares. One hundred million (100,000,000) shares shall be designated preferred stock, par value \$0.02 per share ("Preferred Stock"). Three hundred million (300,000,000) shares shall be designated common stock, par value \$0.02 per share ("Common Stock") The Common Stock of the Corporation shall be all of one class.

(b) The number of authorized shares of any class or classes of stock may be increased or decreased (but not below the number of shares thereof then outstanding) by the affirmative vote of a majority in voting power of the outstanding stock of the Corporation entitled to vote thereon irrespective of the provisions of Section 242(b)(2) of Delaware Law.

SECTION 4.02. *Common Stock.* (a) *Issuance and Consideration.* Any unissued or treasury shares of the Common Stock may be issued for such consideration as may be fixed in accordance with applicable law from time to time by the Board of Directors.

(b) *Dividends.* Subject to the rights of holders of the Preferred Stock, the holders of the Common Stock shall be entitled to receive, when and as declared by the Board of Directors, out of the assets of the Corporation which are by law available therefor, dividends payable either in cash, in property, or in shares of stock and the holders of the Preferred Stock shall not be entitled to participate in any such dividends (unless otherwise provided by the Board of Directors in any resolution providing for the issue of a series of Preferred Stock).

SECTION 4.03. *Preferred Stock.*

(a) *Series and Limits of Variations between Series.* Any unissued or treasury shares of the Preferred Stock may be issued from time to time in one or more series for such consideration as may be fixed from time to time by the Board of Directors. Before any shares of Preferred Stock of any particular series shall be issued, a certificate shall be filed with the Secretary of State of Delaware setting forth the designation, rights, privileges, restrictions and conditions to be attached to the Preferred Stock of such series and such other matters as may be required, and the Board of Directors shall fix and determine, and is hereby expressly empowered to fix and determine, in the manner provided by law the particulars of

En la Notaría Cuarenta de esta ciudad
coincidió la presente fotocopia con
el original que se le exhibió a la vista.
U 4 ABR. 2012
NOTARIO CUARENTA
Bogotá, D.C. Colombia
Agustín Castillo Zárate

159

the shares of such series (so far as not inconsistent with the provisions of this Article 4 applicable to all series of Preferred Stock), including, but not limited to, the following:

(i) the distinctive designation of such series and the number of shares which shall constitute such series, which number may be increased (except where otherwise provided by the Board of Directors in creating such series) or decreased (but not below the number of shares thereof then outstanding) from time to time by like action of the Board of Directors;

(ii) the annual rate of dividends payable on shares of such series, the conditions upon which such dividends shall be payable and the date from which dividends shall be cumulative in the event the Board of Directors determines that dividends shall be cumulative;

(iii) whether such series shall have voting rights, in addition to the voting rights provided by law and, if so, the terms of such voting rights;

(iv) whether such series shall have conversion privileges and, if so, the terms and conditions of such conversion, including, but not limited to, provision for adjustment of the conversion rate upon such events and in such manner as the Board of Directors shall determine;

(v) whether or not the shares of such series shall be redeemable and, if so, the terms and conditions of such redemption, including the date or dates upon or after which they shall be redeemable, and the amount per share payable in case of redemption, which amount may vary under different conditions and at different redemption dates;

(vi) whether such series shall have a sinking fund for the redemption or purchase of shares of that series and, if so, the terms and amount of such sinking fund;

(vii) the rights of the shares of such series in the event of voluntary or involuntary liquidation, dissolution or winding up of the Corporation, and the relative rights of priority, if any, of payment of shares of that series; and

(viii) any other relative rights, preferences and limitations of such series.



ARTICLE 5

SECTION 5.01. *Amendment of Bylaws by Directors.* (a) In furtherance and not in limitation of the powers conferred by statute, the Board of Directors is expressly authorized to make, alter, amend, repeal and rescind the bylaws of the Corporation, subject to Sections 5.01(b) and 5.01(c) hereof.

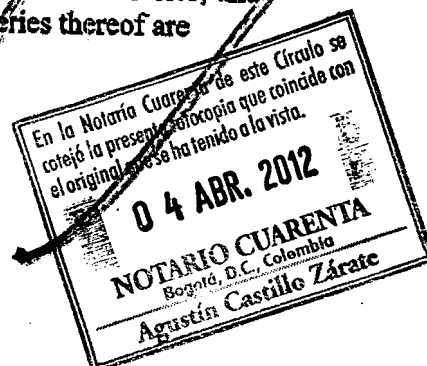
(b) Sections 2.02, 3.02, 3.03(a), 3.03(b), 3.04, 3.05, 3.14, and 5.06 of the bylaws may only be altered, amended, repealed, or rescinded by the affirmative vote of holders of capital stock entitled to vote thereon representing more than 60% of the shares entitled to be voted thereon.

(c) Sections 3.03(c) and 3.15 of the bylaws may only be altered, amended, repealed, or rescinded by the affirmative vote of holders of capital stock entitled to vote thereon representing more than 90% of the shares entitled to be voted thereon.

SECTION 5.02. *Amendment of Certificate of Incorporation.* Section 5.01(b) of this Certificate of Incorporation may only be altered, amended, repealed, or rescinded by the affirmative vote of holders of capital stock entitled to vote thereon representing more than 60% of the shares entitled to be voted thereon. Section 5.01(c) and Articles 8 and 9 of this Certificate of Incorporation may only be altered, amended, repealed, or rescinded by the affirmative vote of holders of capital stock entitled to vote thereon representing more than 90% of the shares entitled to be voted thereon.

ARTICLE 6

SECTION 6.01. *Election of Directors by Holders of Preferred Stock.* During any period when the holders of any Preferred Stock or any one or more series thereof, voting as a class, shall be entitled to elect a specified number of directors, by reason of dividend arrearages or other provisions giving them the right to do so, then and during such time as such right continues (i) the then otherwise authorized number of directors shall be increased by such specified number of directors, and the holders of such Preferred Stock or such series thereof, voting as a class, shall be entitled to elect the additional directors so provided for, pursuant to the provisions of such Preferred Stock or series; (ii) each such additional director shall serve for such term, and have such voting powers, as shall be stated in the provisions pertaining to such Preferred Stock or series; and (iii) whenever the holders of any such Preferred Stock or series thereof are



161

divested of such rights to elect a specified number of directors, voting as a class, pursuant to the provisions of such Preferred Stock or series, the terms of office of all directors elected by the holders of such Preferred Stock or series, voting as a class pursuant to such provisions or elected to fill any vacancies resulting from the death, resignation or removal of directors so elected by the holders of such Preferred Stock or series, shall forthwith terminate and the authorized number of directors shall be reduced accordingly.

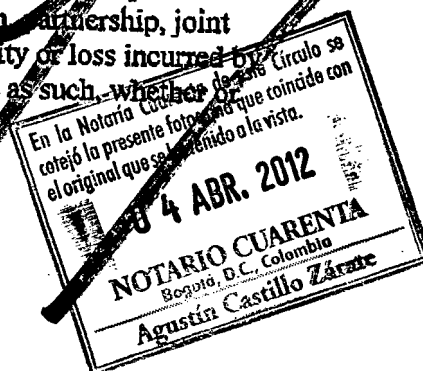
SECTION 6.02. *Ballots.* Elections of directors at an annual or special meeting of stockholders need not be by written ballot unless the bylaws of the Corporation shall provide otherwise.

SECTION 6.03. *Elimination of Certain Personal Liability of Directors.* (a) A director of the Corporation shall not be liable to the Corporation or its stockholders for monetary damages for breach of fiduciary duty as a director to the fullest extent permitted by Delaware Law.

(b) Each person (and the heirs, executors or administrators of such person) who was or is a party or is threatened to be made a party to, or is involved in any threatened, pending or completed action, suit or proceeding, whether civil, criminal, administrative or investigative, by reason of the fact that such person is or was a director of the Corporation or is or was serving at the request of the Corporation as a director of another corporation, partnership, joint venture, trust or other enterprise, shall be indemnified and held harmless by the Corporation to the fullest extent permitted by Delaware Law. The right to indemnification conferred in this Section 6.03 shall also include the right to be paid by the Corporation the expenses incurred in connection with any such proceeding in advance of its final disposition to the fullest extent authorized by Delaware Law. The right to indemnification conferred in this Section 6.03 shall be a contract right.

(c) The Corporation may, by action of its Board of Directors, provide indemnification to such of the officers, employees and agents of the Corporation to such extent and to such effect as the Board of Directors shall determine to be appropriate and authorized by Delaware Law.

(d) The Corporation shall have power to purchase and maintain insurance on behalf of any person who is or was a director, officer, employee or agent of the Corporation, or is or was serving at the request of the Corporation as a director, officer, employee or agent of another corporation, partnership, joint venture, trust or other enterprise against any expense, liability or loss incurred by such person in any such capacity or arising out of his status as such, whether or not



not the Corporation would have the power to indemnify him against such liability under Delaware Law.

(e) The rights and authority conferred in this Section 6.03 shall not be exclusive of any other right which any person may otherwise have or hereafter acquire.

(f) Neither the alteration, amendment, repeal or rescission of this Section 6.03, nor the adoption of any provision of this Certificate of Incorporation or the bylaws of the Corporation, nor, to the fullest extent permitted by Delaware Law, any modification of law, shall eliminate or reduce the effect of this Section 6.03 in respect of any acts or omissions occurring prior to such alteration, amendment, repeal, rescission, adoption or modification.

ARTICLE 7

SECTION 7.01. *Section 203 of Delaware Law.* The Corporation hereby elects not to be governed by Section 203 of Delaware Law.

ARTICLE 8

SECTION 8.01. *Relationship With Roche.* In anticipation that the Corporation will cease to be a wholly owned subsidiary of Roche Holdings, Inc., but that Roche (as defined in Section 8.05) will remain a stockholder of the Corporation, and in anticipation that the Corporation (as defined in Section 8.05) and Roche may engage in the same or similar activities or lines of business and have an interest in the same areas of corporate opportunities, and in recognition of (i) the benefits to be derived by the Corporation through its continued contractual, corporate and business relations with Roche (including service of officers and directors of Roche as directors of the Corporation) and (ii) the difficulties attendant to any director, who desires and endeavors fully to satisfy such director's fiduciary duties, in determining the full scope of such duties in any particular situation, the provisions of this Article 8 are set forth to regulate, define and guide the conduct of certain affairs of the Corporation as they may involve Roche and its officers and directors, and the powers, rights, duties and liabilities

En la Notaría Cuarenta de este artículo se
cotejó la presente fotocopia que coincide con
el original que se encuentra a la vista.
4 ABR. 2012
NOTARIO CUARENTA
Bogotá, D.C. Colombia
Agustín Castillo Zárate

of the Corporation and its officers, directors and stockholders in connection therewith.

SECTION 8.02. *Similar Business Activities.* Except as Roche Holdings, Inc. may otherwise agree in writing,

(a) Roche shall not have a duty to refrain from engaging directly or indirectly in the same or similar business activities or lines of business as the Corporation, and

(b) neither Roche nor any officer or director thereof shall be liable to the Corporation or its stockholders for breach of any fiduciary duty by reason of any such activities of Roche or of such person's participation therein.

In the event that Roche acquires knowledge of a potential transaction or matter that may be a corporate opportunity for both Roche and the Corporation, Roche shall have no duty to communicate or offer such corporate opportunity to the Corporation and shall not be liable to the Corporation or its stockholders for breach of any fiduciary duty as a stockholder of the Corporation or controlling person of a stockholder by reason of the fact that Roche pursues or acquires such corporate opportunity for itself, directs such corporate opportunity to another person or entity, or does not communicate information regarding, or offer, such corporate opportunity to the Corporation.

SECTION 8.03. *Corporate Opportunities.* In the event that a director, officer or employee of the Corporation who is also a director, officer or employee of Roche acquires knowledge of a potential transaction or matter that may be a corporate opportunity for the Corporation and Roche (whether such potential transaction or matter is proposed by a third-party or is conceived of by such director, officer or employee of the Corporation), such director, officer or employee shall be entitled to offer such corporate opportunity to the Corporation or Roche as such director, officer or employee deems appropriate under the circumstances in his sole discretion, and no such director, officer or employee shall be liable to the Corporation or its stockholders for breach of any fiduciary duty or duty of loyalty or failure to act in (or not opposed to) the best interests of the Corporation or the derivation of any improper personal benefit by reason of the fact that (i) such director, officer or employee offered such corporate opportunity to Roche (rather than the Corporation) or did not communicate information regarding such corporate opportunity to the Corporation or (ii) Roche pursues or acquires such corporate opportunity for itself or directs such corporate opportunity to another person or does not communicate information regarding such corporate opportunity to the Corporation.

En la Notaría Cuarenta de este Círculo se
cotejó la presente fotocopia que coincide con
el original que se ha tenido a la vista.
04 ABR. 2012
NOTARIO CUARENTA
Bogotá, D.C., Colombia
Agustín Castillo Zárate

164

SECTION 8.04. *Deemed Consent of Stockholders.* Any person or entity purchasing or otherwise acquiring any interest in any shares of capital stock of the Corporation shall be deemed to have notice of and to have consented to the provisions of this Article 8.

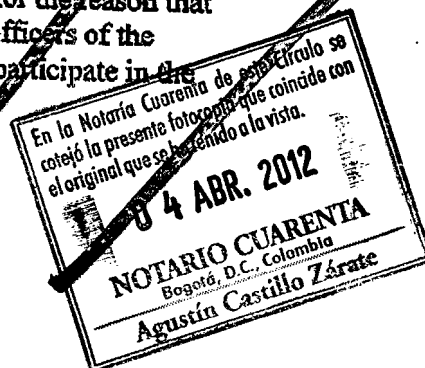
SECTION 8.05. *Definitions.* For purposes of this Article 8 and Article 9 only, (i) the term "Corporation" shall mean the Corporation and all corporations, partnerships, joint ventures, associations and other entities in which the Corporation beneficially owns (directly or indirectly) fifty percent or more of the outstanding voting stock, voting power or similar voting interests, and (ii) the term "Roche" shall mean Roche Holdings, Inc. and all corporations, partnerships, joint ventures, associations and other entities (other than the Corporation, defined in accordance with clause (i) of this Section 8.05) that are "affiliates" (as defined in Rule 12b-2 under the Securities Exchange Act of 1934, as amended) of Roche Holdings, Inc.

SECTION 8.06. *Termination: Binding Effect.* Notwithstanding anything in this Certificate of Incorporation to the contrary, the foregoing provisions of this Article 8 shall expire on the date that Roche ceases to own beneficially Common Stock representing at least 5% of the number of outstanding shares of Common Stock of the Corporation and no person who is a director or officer of the Corporation is also a director or officer of Roche. Neither such expiration, nor the alteration, amendment, change or repeal of any provision of this Article 8 nor the adoption of any provision of this Amended and Restated Certificate of Incorporation inconsistent with any provision of this Article 8 shall eliminate or reduce the effect of this Article 8 in respect of any matter occurring, or any cause of action, suit or claim that, but for this Article 8, would accrue or arise, prior to such expiration, alteration, amendment, repeal or adoption.

SECTION 8.07. *Article 9.* The provisions of this Article 8 are in addition to the provisions of Article 9.

ARTICLE 9

SECTION 9.01. *Contracts Not Void.* No contract, agreement, arrangement or transaction (or any amendment, modification or termination thereof) between the Corporation and Roche shall be void or voidable solely for the reason that Roche is a party thereto, or solely because any directors or officers of the Corporation who are affiliated with Roche are present at or participate in the



meeting of the Board of Directors or committee thereof which authorizes the contract, agreement, arrangement, transaction, amendment, modification or termination or solely because his or their votes are counted for such purpose, but any such contract, agreement, arrangement or transaction (or any amendment, modification or termination thereof) shall be governed by the provisions of this Amended and Restated Certificate of Incorporation, the Corporation's Bylaws, Delaware Law and other applicable law. For purposes of this Article 9, the terms the "Corporation" and "Roche" have the meanings set forth in Section 8.05.

SECTION 9.02. *Quorum.* Directors of the Corporation who are also directors or officers of Roche may be counted in determining the presence of a quorum at a meeting of the Board of Directors or of a committee that authorizes or approves any such contract, agreement, arrangement or transaction (or amendment, modification or termination thereof). Outstanding shares of Common Stock owned by Roche may be counted in determining the presence of a quorum at a meeting of stockholders that authorizes or approves any such contract, agreement, arrangement or transaction (or amendment, modification or termination thereof).

SECTION 9.03. *No Liability For Good Faith Actions.* Neither Roche nor any officer or director thereof shall be liable to the Corporation or its stockholders for breach of any fiduciary duty or duty of loyalty or failure to act in (or not opposed to) the best interests of the Corporation or the derivation of any improper personal benefit by reason of the fact that Roche or an officer or director thereof in good faith takes any action or exercises any rights or gives or withholds any consent in connection with any agreement or contract between Roche and the Corporation. No vote cast or other action taken by any person who is an officer, director or other representative of Roche, which vote is cast or action is taken by such person in his capacity as a director of this Corporation, shall constitute an action of or the exercise of a right by or a consent of Roche for the purpose of any such agreement or contract.

SECTION 9.04. *Deemed Consent by Stockholders.* Any person or entity purchasing or otherwise acquiring any interest in any shares of capital stock of the Corporation shall be deemed to have notice of and to have consented to the provisions of this Article 9.

SECTION 9.05. *Contracts Covered.* For purposes of this Article 9, any contract, agreement, arrangement or transaction with the Corporation or any corporation, partnership, joint venture, association or other entity in which the Corporation beneficially owns (directly or indirectly) fifty percent or more of the outstanding voting stock, voting power or similar voting interests shall be deemed to be a contract, agreement, arrangement or transaction with the Corporation.

[Handwritten signature]

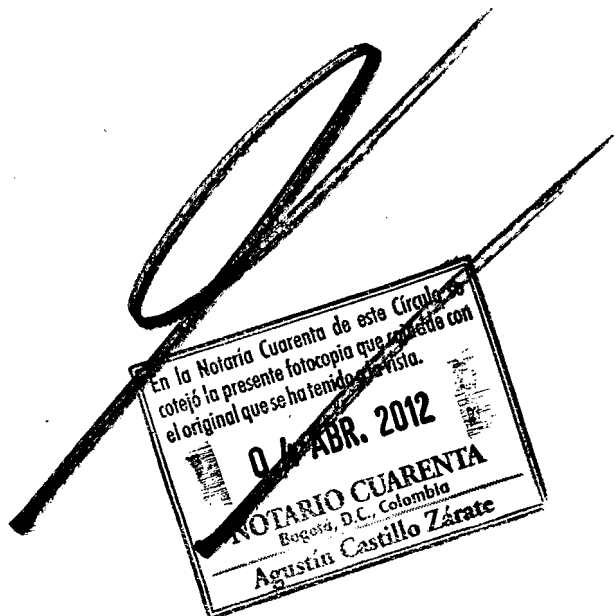
En la Notaría Cuarenta de este Círculo se
ratificó la presente fotocopia que coincide con
el original que se ha tenido a la vista.

04 ABR. 2012

NOTARIO CUARENTA
Bogotá, D.C., Colombia
Agustín Castillo Zárate

SECTION 9.06. *Binding Effect.* Neither the alteration, amendment, change or repeal of any provision of this Article 9 nor the adoption of any provision inconsistent with any provision of this Article 9 shall eliminate or reduce the effect of this Article 9 in respect of any matter occurring, or any cause of action, suit or claim that, but for this Article 9, would accrue or arise, prior to such alteration, amendment, change, repeal or adoption.

SECTION 9.07. *Article 8.* The provisions of this Article 9 are in addition to the provisions of Article 8.



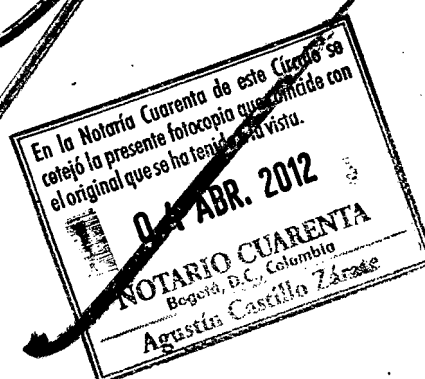
167

IN WITNESS WHEREOF, this Amended and Restated Certificate of Incorporation, having been duly adopted in accordance with Sections 242 and 245 of the General Corporation Law of the State of Delaware and by the written consent of the sole stockholder of the Corporation in accordance with Section 228 of the General Corporation Law of the State of Delaware, has been executed this 22nd day of July, 1999.

GENENTECH, INC.

By: /s/ Stephen G. Juelsgaard
Name: Stephen G. Juelsgaard
Title: Senior Vice President,
General Counsel and Secretary

11



TRADUCCION AL ESPAÑOL del Certificado de Incorporación de Genentech, Inc.

APOSTILLA

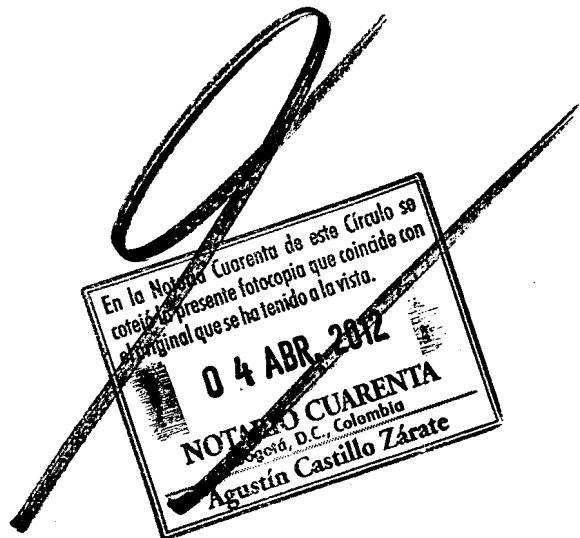
(Convención de La Haya del 5 de Octubre de 1961)

1. País: Estados Unidos de América
Este documento público
2. ha sido firmado por Harriet Smith Windsor
3. actuando en capacidad de Secretaria de Estado de Delaware
4. lleva el sello/timbre de la Oficina del Secretario de Estado

Certificado

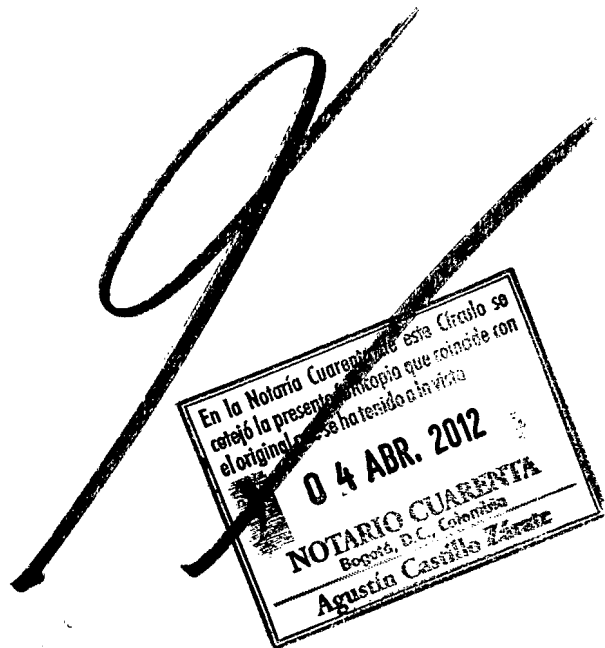
5. en Dover, Delaware
6. el veinticuatro de mayo, A. D. 2005
7. por el Secretario de Estado, Departamento de Estado de Delaware
8. No. 0254030
9. Sello/timbre
10. Firma

Harriet Smith Windsor (Firma)
Secretaria de Estado



DELAWARE
EL PRIMER ESTADO

YO, HARRIET SMITH WINDSOR, SECRETARIA DE ESTADO DEL ESTADO DE DELAWARE, CERTIFICO POR LA PRESENTE QUE EL ANEXO ES UNA COPIA AUTÉNTICA Y CORRECTA DEL CERTIFICADO VUELTO A REDACTAR DE "GENENTECH, INC", PRESENTADO EN ESTA OFICINA EL VIGÉSIMO SEGUNDO DÍA DE JULIO, A. D. 1999, A LAS 9 EN PUNTO DE LA MAÑANA.



Harriet Smith Windsor (Firma)
Harriet Smith Windsor, Secretaria de Estado
AUTENTICACIÓN: 3900384

FECHA: 05 - 24 - 05

170

CORREGIDO Y VUELTO A REDACTAR
CERTIFICADO DE INCORPORACIÓN
GENENTECH, INC.

Genentech, Inc (la "**Corporación**"), una corporación organizada y existente bajo y por virtud de la Ley General de Corporación del Estado de Delaware, por la presente corrige el Certificado de Incorporación, el fue presentado originalmente el 23 de diciembre de 1986, bajo el nombre "Genentech Delaware, Inc.", y corregido subsiguientemente.

Por la presente se vuelve a redactar el certificado de incorporación de la Corporación y se corrige aun más para que diga en su totalidad lo que sigue:

ARTICULO 1

El nombre de la Corporación es: Genentech, Inc.

ARTICULO 2

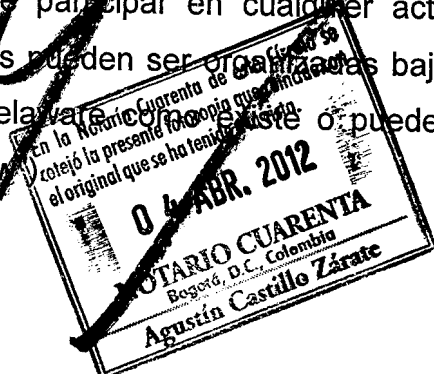
La dirección de la oficina registrada de la Corporación en el Estado de Delaware es Corporation Service Company, 1013 Centre Road, Ciudad de Wilmington, Condado de New castle, Delaware 19805. El nombre de su agente registrado en tal dirección es Corporation Service Company.

ARTICULO 3

El propósito de a Corporación es el de participar en cualquier acto o actividad legal para las cuales las corporaciones pueden ser organizadas bajo la Ley General de Corporación del Estado de Delaware, o puede se modificada la misma en adelante ("**Delaware Law**").

ARTICULO 4

SECCION 4.01. *Acciones de Capital.* (a) la Corporación está autorizada a emitir dos clases de acciones que deben designarse, respectivamente, acciones preferenciales y acciones comunes. El número total de acciones que la Corporación esta autorizada a emitir es de cuatrocientos millones (400,000,000) de acciones. Cien millones (100,000,000) de acciones serán designadas acciones



preferenciales, por un valor de \$0.02 por acción (**"Acción Preferencial"**). Trecientos millones (300,000,000) de acciones serán designadas acciones comunes, por un valor de \$0.02 por acción (**"Acción Común"**). La acción común de la Corporación será toda de una misma clase.

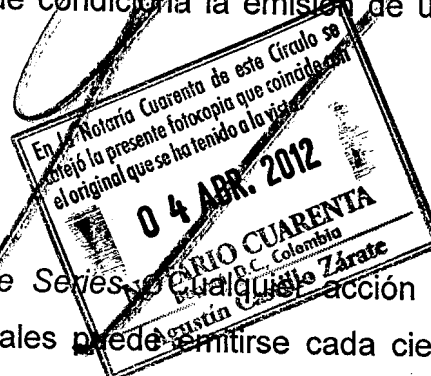
(b) El número de acciones autorizadas de cualquier clase o clases de acciones puede incrementarse o disminuirse (pero no por debajo del número del número de acciones de las mismas que en su momento están vigentes) por el voto afirmativo de una mayoría con poder de votación de las acciones vigentes de la Corporación con derecho a votar por la misma independiente de las consideraciones de la Sección 242(b)(2) de la Ley de Delaware.

SECCION 4.02. *Acción Común.* (a) *Emisión y Consideración.* Cualquier acción sin emitir o del tesoro del las Acciones Comunes puede emitirse para tal consideración como pueda fijarse de acuerdo con la ley aplicable cada cierto tiempo por la Junta Directiva.

(b) *Dividendos.* Sujeto a los derechos de los accionistas de las Acciones Preferenciales, los accionistas de Acciones Comunes deberán tener el derecho a recibir, cuando y como se declare por la Junta Directiva, de los activos de la Corporación los cuales están disponibles para ello por ley, dividendos pagables ya sea en dinero, propiedad, o acciones y los accionistas de la Acción Preferencial no tendrán derecho a participar en tales dividendos (a menos que la Junta Directiva determine lo contrario en cualquier resolución que condiciona la emisión de una serie de Acciones Preferenciales).

SECCIÓN 4.03. *Acción Preferencial*

(a) *Series y Límites de Variaciones entre Series.* Cualquier acción no emitida o del tesoro de las Acciones Preferenciales puede emitirse cada cierto tiempo en una o más series para tal consideración como pueda ser fijada cada cierto tiempo por la Junta Directiva. Antes de que se emita cualquier acción de las Acciones Preferenciales de cualquier serie particular, se deberá presentar un certificado ante el Secretario de Estado de Delaware estableciendo las designaciones, derechos, privilegios, restricciones, y condiciones que irán anexas a las Acciones Preferenciales de tal serie y tales otras cuestiones como puedan requerirse, y la Junta Directiva deberá fijar y determinar, y por la presente está expresamente autorizada para fijar y determinar, en la forma provista por la ley, los



particulares de las acciones de tal serie (siempre y cuando no sean inconsistentes con las condiciones de este Artículo 4 aplicables a todas las series de Acciones Preferenciales), incluyendo, pero sin limitarse a, las siguientes:

(i) la designación distintiva de tal serie y el número de las acciones que han de constituir tal serie, numero que puede incrementarse (excepto cuando lo determine de otro modo la Junta Directiva al crear tal serie) o reducida (pero no por debajo del número de acciones de las mismas que están vigentes) cada cierto tiempo por una acción semejante de la Junta Directiva;

(ii) la tasa anual de dividendos a pagar sobre las acciones de tal serie, las condiciones sobre las cuales se pagarán tales dividendos y le fecha a partir de la cual los dividendos serán acumulativos en el evento que la Junta Directiva determine que los dividendos serán acumulativos;

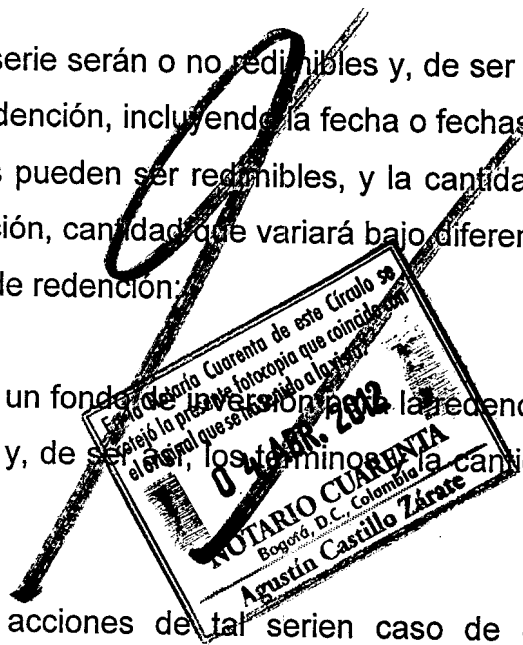
(iii) si la serie tendrá o no derechos de voto, además de los derechos de voto provistos por la ley, y de ser así, los términos de tales derechos de voto;

(iv) si tal serie tendrá o no privilegios de conversión y, de ser así, los términos y condiciones de tal conversión, incluyendo, pero sin estar limitado a, la condición para ajuste de la tasa de conversión en tales eventos y de tal forma como la Junta Directiva lo determine;

(v) si las acciones de tal serie serán o no redimibles y, de ser así, los términos y condiciones de tal redención, incluyendo la fecha o fechas en las cuales o después de las cuales pueden ser redimibles, y la cantidad a pagar por acción en caso de redención, cantidad que variará bajo diferentes condiciones y en diferentes fechas de redención;

(vi) si tal serie tendrá o no un fondo de inversión, la redención o compra de acciones de esa serie y, de ser así, los términos y condiciones de tal fondo de inversión;

(vii) los derechos de las acciones de tal serie en caso de una liquidación, disolución o cierre voluntaria o involuntaria de la Corporación, y



los derechos relativos de prioridad, de haber, de pago de acciones de esa serie; y

(viii) cualquier otro derecho relativo, preferencia y limitación de tal serie.

ARTICULO 5

SECCION 5.01. *Enmiendas a los estatutos por los Directores.* (a) En adición y no limitando los poderes conferidos por estatutos, la Junta Directiva esta expresamente autorizada para hacer, alterar, enmendar, rechazar y rescindir los estatutos de la Corporación, sujetos a las secciones 5.01(b) y 5.01(c) a continuación.

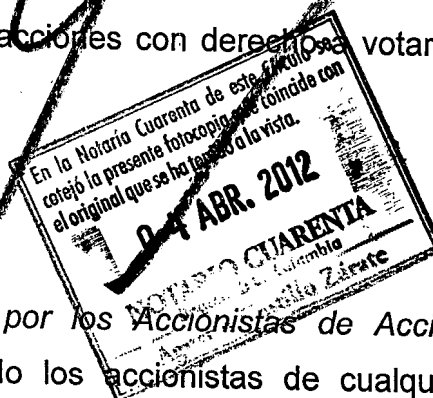
(b) Las secciones 2.02, 3.02, 3.03(a), 3.04, 3.05, 3.14 y 5.06 de los estatutos solo pueden alterarse, enmendarse, repelerse, o rescindirse por el voto afirmativo de los accionistas de capital con derecho a votar las mismas que representen más del 60% de las acciones con derecho a votar las mismas.

(c) Las secciones 3.03(c) y 3.15 de los estatutos solo pueden ser alteradas, enmendadas, repelidas, o rescindidas por el voto afirmativo de los accionistas de capital con derecho a votar las mismas que representen más del 90% de las acciones con derecho a votar las mismas.

SECCION 5.02. *Enmienda del Certificado de Incorporación.* La sección 5.01 (b) de este Certificado de Incorporación solo puede ser alterada, enmendada, repelida, o rescindida por el voto afirmativo de los accionistas de capital con derecho a voto sobre la misma que representen a más del 60% de las acciones con derecho a votar la misma. La sección 5.01(c) y los Artículos 8 y 9 de este Certificado de Incorporación solo pueden alterarse, enmendarse, repelerse, o rescindirse por el voto afirmativo de los accionistas de capital con derecho a votar la misma que representen más del 90% de las acciones con derecho a votar la misma.

ARTICULO 6

SECCION 6.01. *Elección del Directorio por los Accionistas de Acción Preferencial.* Durante cualquier periodo cuando los accionistas de cualquier

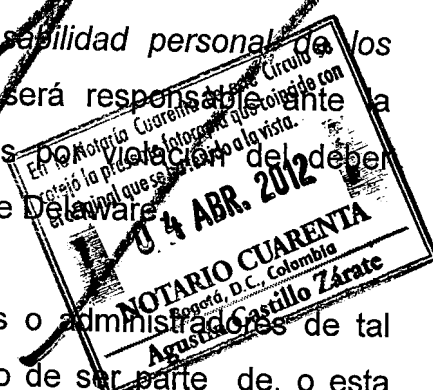


acción preferencial cualquiera de una o más series de las mismas, que voten como una clase, tengan derecho a elegir un número específico de directores, por razón a atrasos en los dividendos u otras condiciones que les dan el derecho a hacerlo, entonces y durante el tiempo que continúe el derecho (i) el número de directores autorizado de otro modo será incrementado por tal número de directores especificado, y los accionistas de tales Acciones Preferenciales o tales series de las mismas, que votan como una clase, tendrán derecho a elegir los directores adicionales para lo que se provee, de acuerdo con las condiciones de tales Acciones Preferenciales o series; (ii) cada uno de tales directores adicionales servirá durante tal termino, y tendrá tales poderes de voto, como se han de otorgar en las provisiones pertinentes a tales Acciones Preferenciales o series; y (iii) siempre que los accionistas de cualquiera de tales Acciones Preferenciales o series de las mismas están desprovistos de tales derechos a elegir un número específico de directores, votando como clase, de acuerdo con las condiciones de tales Acciones preferenciales o series, los términos de oficio de todos los directores elegidos por los accionistas de tales Acciones preferenciales o series, que votan como clase, de acuerdo con las condiciones o elegidos para llenar cualquier vacante resultante de la muerte, renuncia o remoción de directores así elegidos por los accionistas de tales Acciones Preferenciales o series, terminarán en adelante y el número autorizado de directores será reducido en concordancia.

SECCION 6.02. *Votaciones.* Las elecciones de directores en una reunión anual o especial de accionistas necesaria no serán por votos escritos a menos que los estatutos de la Corporación digan lo contrario.

SECCION 6.03. *Eliminación de cierta responsabilidad personal de los directores.* (a) Un director de la Corporación no será responsable ante la Corporación o sus accionistas por daños monetarios por violación del deber fiduciario como director hasta donde lo permita la ley de Delaware.

(b) Cada persona (y sus herederos, ejecutores o administradores de tal persona) quien fue o es una parte o esta amenazado de ser parte de, o esta involucrado en cualquier acción, demanda o proceso amenazado, pendiente, o completado, ya sea civil, criminal, administrativo o investigativo, por razón del hecho de que esa persona es o fue un director de la Corporación o es o estaba sirviendo por solicitud de la Corporación como un director de otra corporación, sociedad, sociedad de riesgo compartido, fideicomiso u otra empresa, será indemnizado y completamente protegido por la Corporación hasta donde lo



permita la Ley de Delaware. El derecho a la indemnización concedido en esta sección 6.03 también debe incluir el derecho a que la Corporación le pague los gastos incurridos en conexión con cualquiera de tales procesos por adelantado de su decisión final hasta donde los autoriza la Ley de Delaware. El derecho a indemnización conferido en esta sección 6.03 será un derecho contractual.

(c) La Corporación puede, por acción de su Junta Directiva, proporcionar indemnización a tales funcionarios, empleados y agentes de la Corporación hasta tal punto y a tal efecto como lo determine apropiado la Junta Directiva y lo autorice la Ley de Delaware.

(d) La Corporación tendrá el poder de comprar y mantener un seguro a nombre de cualquier persona quien es o fue director, funcionario, empleado o agente de la corporación, o esta o estuvo en servicio por pedido de la Corporación como director, funcionario, empleado o agente de otra corporación, sociedad, sociedad de riesgo compartido, fideicomiso u otra empresa contra cualquier gasto, responsabilidad o pérdida incurrida por tal persona en cualquier capacidad o que surge de su estado como tal, ya sea si la Corporación tiene o no el poder de indemnizarlo contra tal responsabilidad bajo la ley de Delaware.

(e) Los derechos y autoridad conferidos en esta Sección 6.03 no serán exclusivos de ningún otro derecho el cual cualquier otra persona pueda tener o adquirir de aquí en adelante.

(f) Ni la alteración, enmienda, rechazo o rescisión de esta Sección 6.03, ni la adopción de ninguna condición de este Certificado de Incorporación o de los Estatutos de la Corporación, ni, hasta donde lo permite la Ley de Delaware, ninguna modificación de la ley, debe eliminar o reducir el efecto de esta Sección 6.03 respecto a ninguno de los actos u omisiones que ocurran antes de tal alteración, enmienda, rechazo, rescisión, adopción o modificación.

ARTICULO 7

SECCION 7.01, Sección 203 de la Ley de Delaware. Por la presente la Corporación elige no ser gobernada por la Sección 203 de la Ley de Delaware.



ARTICULO 8

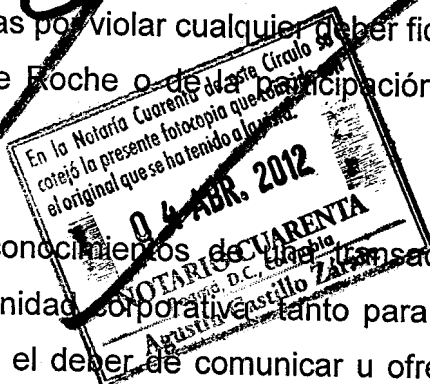
SECCION 8.01. *Relación con Roche.* Anticipándose a que la Corporación cese de ser un subsidiaria completamente de propiedad de Roche Holdings, Inc., pero que Roche (como se define en la sección 8.05) permanezca siendo un accionista de la Corporación, y anticipándose a que la Corporación (como se define en la Sección 8.05) y Roche puede entrar en actividades o líneas de negocios semejantes o similares y tener un interés en las mismas áreas de oportunidades corporativas, y en reconocimiento de (i) los beneficios a ser derivados por la Corporación a través de sus relaciones contractuales, corporativas y de negocios con Roche (incluyendo el servicio de funcionarios y directores de Roche como directores de la Corporación) y (ii) las dificultades concomitantes a cualquier director, quien desea y se propone satisfacer completamente tales deberes fiduciarios del director, al determinar el alcance completo de tales deberes en cualquier situación particular, las condiciones de este artículos 8 se establecen para regular, definir y guiar la conducta de ciertas cuestiones de la Corporación ya que pueden involucrar a Roche y sus funcionarios y directores, y los poderes, derechos, deberes y responsabilidades de la Corporación y sus funcionarios, directores y accionistas en conexión con éste.

SECCION 8.02. *Actividades en Negocios Similares.* Excepto que Roche Holdings, Inc. pueda de otra forma acordarlo por escrito,

(a) Roche no tendrá el deber de abstenerse de entrar directamente o indirectamente en actividades de negocios o líneas de negocios semejantes o similares a las de la Corporación, y

(b) ni Roche ni ninguno de sus funcionarios o director de la misma será responsable a la Corporación o sus accionistas por violar cualquier deber fiduciario por razón de alguna de tales actividades de Roche o de la participación de tal persona en las mismas.

En el evento que Roche adquiera conocimientos de una oportunidad o materia potencial que pueda ser una oportunidad corporativa, tanto para Roche como para la Corporación, Roche no tendrá el deber de comunicar u ofrecer tal oportunidad corporativa a la Corporación y no será responsable ante la Corporación o sus accionistas por violar ningún deber fiduciario como accionista de la Corporación o la persona que controla a un accionista por razón del hecho



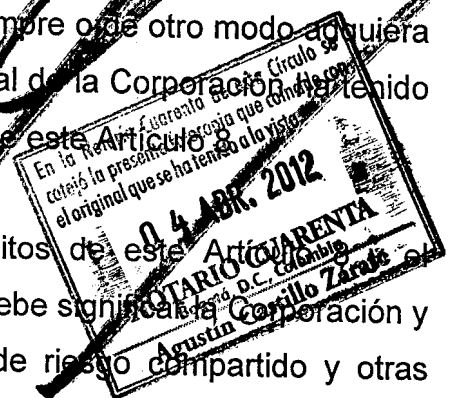
177

que Roche prosigue o adquiere tal oportunidad corporativa para si misma, dirige tal oportunidad corporativa a otra persona o entidad, o no comunica información respecto, u ofrece, tal oportunidad corporativa a la Corporación.

SECCION 8.03. *Oportunidades Corporativas.* En el evento que un director, funcionario o empleado de la Corporación quien también es director, funcionario o empleado de Roche adquiera conocimiento de una transacción o materia potencial que pueda ser una oportunidad corporativa para la Corporación y Roche (ya se si esta transacción o materia potencial es propuesta por un tercero o es concebida por tal director, funcionario o empleado de la Corporación o no), tal director, funcionario o empleado debe tener el derecho a ofrecer tal oportunidad corporativa a la Corporación o Roche como tal director, funcionario o empleado los considere apropiado bajo las circunstancias de su discreción, y tal director, funcionario o empleado no será responsable a la Corporación o sus accionistas por violar ningún deber fiduciario o deber de lealtad o faltar en actuar en (o no oponerse a) los mejores intereses de la Corporación o la derivación de ningún beneficio personal inapropiado por razón del hecho que (i) tal director, funcionario o empleado ofreció tal oportunidad corporativa a Roche (en lugar de a la Corporación) o no comunicó información respecto a tal oportunidad corporativa a la Corporación o (ii) Roche busca o adquiere tal oportunidad corporativa para si misma o dirige tal oportunidad corporativa a otra persona o no comunica información respecto a tal oportunidad corporativa a la Corporación.

SECCION 8.04. *Consentimiento estimado de los accionistas.* Se considerará que cualquier persona o entidad que compre o de otro modo adquiriera algún interés en cualquiera de las acciones de capital de la Corporación, ha tenido noticia o ha estado de acuerdo con las condiciones de este Artículo 8.

SECCION 8.05. *Definiciones.* Para propósitos de este Artículo 9 solamente, (i) el término "**Corporación**" debe significar la Corporación y todas las corporaciones, sociedades, sociedades de riesgo compartido y otras entidades en las cuales la Corporación posee con beneficio (directa o indirectamente) cincuenta por ciento o más de las acciones con voto, poder de voto o intereses de voto similares, y (ii) el término "**Roche**" debe significar Roche Holdings, Inc y todas las corporaciones, sociedades, sociedades de riesgo compartido, asociaciones y otras entidades (diferentes a la Corporación, definida de acuerdo con la cláusula (i) de esta sección 8.05) que son "**afiliados**" (como se



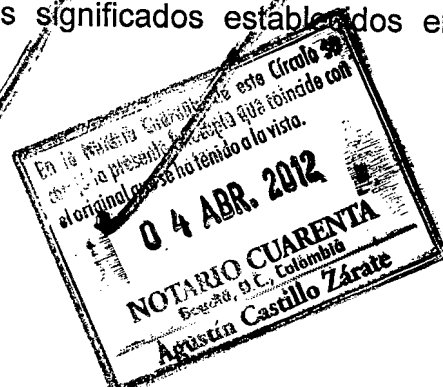
178
define en la Regla 12b-2 bajo el Acta de Intercambio de Valores de 1934, como se enmendó) de Roche Holdings, Inc.

SECCION 8.06, *Finalización: Efecto Obligante*. Son consideración con nada en este Certificado de Incorporación que lo contradiga, las condiciones anteriores de este Artículo 8 deberán expirar en la fecha que Roche cese de poseer con beneficios Acciones Comunes que representen al menos 5% del número de acciones vigentes de las Acciones Comunes de la Corporación y nadie que se director o funcionario de la Corporación sea también director o funcionario de Roche. Ni tal vencimiento, ni la alteración, enmienda, cambio o rechazo de alguna de las condiciones de este Artículo 8 así como tampoco ninguna condición de este Certificado de Incorporación Enmendado y Vuelto a Redactar inconsistente con alguna de las condiciones de este Artículo 8 eliminará o reducirá el efecto de este Artículo 8 respecto a cualquier materia, o cualquier causa de acción, demanda o reclamo que, excepto por este Artículo 8, pueda acaecer o surgir, antes de tal vencimiento, alteración, enmienda o adopción.

SECCION 8.07. *Artículo 9*. Las condiciones de este Artículo son adicionales a las condiciones del Artículo 9.

ARTICULO 9

SECCION 9.01. *Contratos no nulos*. Ningún contrato, acuerdo, arreglo o transacción (o cualquier enmienda, modificación o finalización de los mismos) entre la Corporación y Roche será nulo u anulable solamente por razón de que Roche es parte del mismo, o solamente porque cualquiera de los directores o funcionarios de la Corporación quienes están afiliados a Roche están presentes en o participan en la reunión de la Junta Directiva o comité de la misma que autoriza el contrato, acuerdo, arreglo, transacción, enmienda, modificación o finalización o solamente porque su o sus votos se cuentan para tal propósito, pero cualquiera de tal contrato, acuerdo, arreglo o transacción (o cualquier enmienda, modificación o finalización del mismo) estará gobernado por las condiciones de este Certificado de Incorporación Enmendado y vuelto a Redactar, los Estatutos de la Corporación, la Ley de Delaware y otras leyes aplicables. Para propósitos de este Artículo 9, los términos "**Corporación**" y "**Roche**" tienen los significados establecidos en la Sección 8.05.



SECCION 9.02. *Quórum.* Los Directores de la Corporación que son también directores o funcionarios de Roche pueden contarse al determinar la presencia de un quórum en una reunión de la Junta Directiva o de un comité que autoriza o aprueba cualquiera de tal contrato, acuerdo, arreglo o transacción (o cualquier enmienda, modificación o finalización del mismo). Las acciones vigentes de las Acciones Comunes de propiedad de Roche pueden contarse al determinar la presencia de un quórum en una reunión de accionistas que autorice o apruebe tal contrato, acuerdo, arreglo o transacción (o cualquier enmienda, modificación o finalización del mismo).

SECCION 9.03. *No responsabilidad por acciones de buena fe.* Ni Roche ni ningún funcionario o director de la misma será responsable ante la Corporación o sus accionistas por violar cualquiera de los deberes fiduciarios o deberes de lealtad o por fallar en actuar en (o no oponerse a) los mejores intereses de la Corporación o por derivación de cualquier beneficio personal por razón del hecho que Roche o un funcionario o director de la misma de buena fe tome cualquier acción o ejerza cualquier derecho o de o retenga cualquier consentimiento en conexión con cualquier acuerdo o contrato entre Roche y la Corporación. Ningún voto dado u otra acción tomada por cualquier persona que es un funcionario, director o representante de Roche, donde el voto o acción es tomado por tal persona en su capacidad como director de esta Corporación, constituirá una acción de o el ejercicio de un derecho o un consentimiento de Roche para los propósitos de cualquiera de tal acuerdo o contrato.

SECCION 9.04. *Consentimiento estimado de los accionistas.* Se considerará que cualquier persona o entidad que compre o de otro modo adquiera algún interés en cualquiera de las acciones de capital de la Corporación ha tenido noticia o ha estado de acuerdo con las condiciones de este Artículo 9.

SECCION 9.05. *Contratos cubiertos.* Para propósitos de este Artículo 9, cualquier contrato, acuerdo, arreglo o transacción con la Corporación o cualquier corporación, sociedad, sociedad de riesgo conjunto, asociación u otra entidad en la cual la Corporación posee con beneficio (directa o indirectamente) el cincuenta por ciento o más de las acciones con voto, poderes de voto o intereses de voto similares vigentes se considerará un contrato, acuerdo o transacción con la Corporación.



SECCION 9.06. *Efecto obligante.* Ni la alteración, enmienda, cambio o rechazo de alguna de las condiciones de este Artículo 9 ni la adopción de alguna condición inconsistente con cualquier condición de este Artículo 9 eliminará o reducirá el efecto de este Artículo 9 respecto a cualquier materia que ocurra, o cualquier causa de acción, demanda o reclamo que, a no ser por este Artículo 9, pueda acaecer o surgir, antes de tal alteración, enmienda, cambio, rechazo o adopción.

SECCION 9.07. *Artículo 8.* Las condiciones de este Artículo 9 son adicionales a las condiciones del Artículo 8.

EN TESTIMONIO DE LO CUAL, este Certificado de Incorporación Enmendado y vuelto a Redactar, el cual ha sido adoptado de acuerdo con las secciones 242 y 245 de la Ley General de Corporación del Estado de Delaware y por consentimiento escrito de el único accionista de la Corporación de acuerdo con la sección 228 de Ley General de Corporación del Estado de Delaware, ha sido ejecutado este 22 de Julio de 1999.

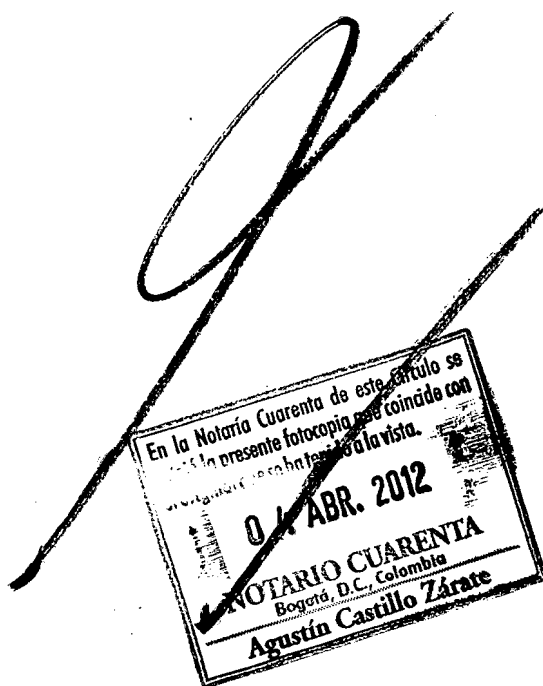
GENENTECH, INC.

Por: /s/ Stephen G. Juelsgaard

Nombre: Stephen G. Juelsgaard

Título: Vicepresidente

Consejo General y Secretaría



Apostille

(Convention de La Haye du 5 Octobre 1961)

1. Country: United States of America

This public document:

2. has been signed by Harriet Smith Windsor

3. acting in the capacity of Secretary of State of Delaware

4. bears the seal/stamp of Office of Secretary of State

Certified

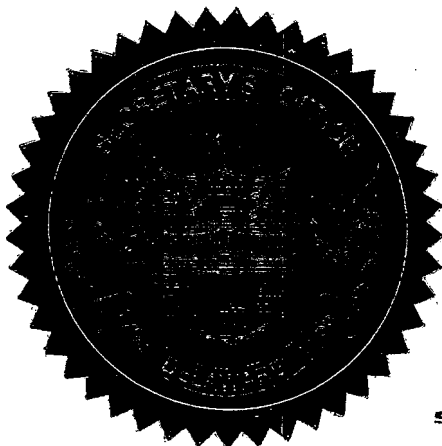
5. at Dover, Delaware

6. the twenty-fourth day of May, A.D. 2005

7. by Secretary of State, Delaware Department of State

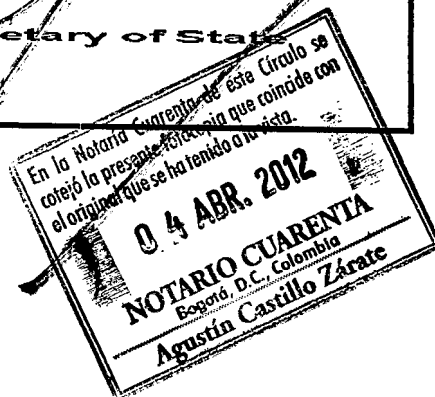
8. No. 0254031

9. Seal/Stamp:



10. Signature:

Harriet Smith Windsor
Secretary of State



Delaware

PAGE 1

The First State

I, HARRIET SMITH WINDSOR, SECRETARY OF STATE OF THE STATE OF DELAWARE, DO HEREBY CERTIFY THE ATTACHED IS A TRUE AND CORRECT COPY OF THE CERTIFICATE OF AMENDMENT OF "GENENTECH, INC.", FILED IN THIS OFFICE ON THE FIFTEENTH DAY OF MAY, A.D. 2000, AT 5 O'CLOCK P.M.



2112549

050426506



Harriet Smith Windsor

Harriet Smith Windsor, Secretary of State
AUTHENTICATION: 3900385

DATE: 05-24-05

CERTIFICATE OF AMENDMENT
OF AMENDED AND RESTATED
CERTIFICATE OF INCORPORATION

Genentech, Inc. a corporation organized and existing under and by virtue of the General Corporation Law of the State of Delaware.

DOES HEREBY CERTIFY:

FIRST: That at a meeting of the Board of Directors of Genentech, Inc. resolutions were duly adopted setting forth a proposed amendment of the Amended and Restated Certificate of Incorporation of said corporation, declaring said amendment to be advisable and calling a meeting of the stockholders of said corporation for consideration thereof. The resolution setting forth the proposed amendment is as follows:

RESOLVED, that the Amended and Restated Certificate of Incorporation of this corporation be amended by changing "Section 4.01(a)" of the Article thereof numbered "4" so that, as amended, said Section of said Article shall be and read as follows:

"Section 4.01. *Capital Stock.* (a) The Corporation is authorized to issue two classes of stock to be designated, respectively, preferred stock and common stock. The total number of shares which the Corporation is authorized to issue is seven hundred million (700,000,000) shares. One hundred million (100,000,000) shares shall be designated preferred stock, par value \$0.02 per share ("Preferred Stock"). Six hundred million (600,000,000) shares shall be designated common stock, par value \$0.02 per share ("Common Stock"). The Common Stock of the Corporation shall be all of one class."

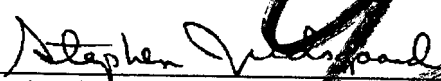
SECOND: That thereafter, pursuant to resolution of its Board of Directors, the regular meeting of the stockholders of said corporation was duly called and held upon notice in accordance with Section 222 of the General Corporation Law of the State of Delaware at which meeting the necessary number of shares as required by statute were voted in favor of the amendment.

THIRD: That said amendment was duly adopted in accordance with the provisions of Section 242 of the General Corporation Law of the State of Delaware.

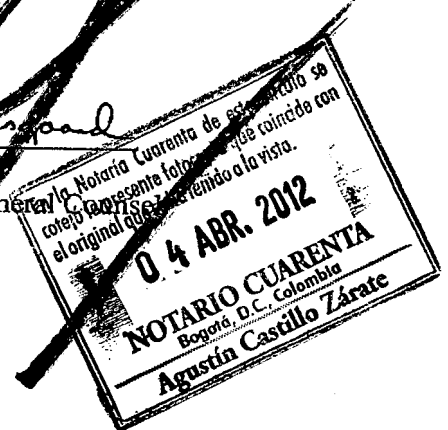
FOURTH: That the capital of said corporation shall not be reduced under or by reason of said amendment.

IN WITNESS WHEREOF, said Genentech, Inc. has caused this Certificate of Amendment to be signed by Stephen G. Juelsgaard, an Authorized Officer, this 15th day of May, 2000.

GENENTECH, INC.

By: 
Name: Stephen G. Juelsgaard
Title: Senior Vice President, General Counsel
and Secretary

75841



184

TRADUCCION AL ESPAÑOL del Certificado de Incorporación de Genentech, Inc.

APOSTILLA

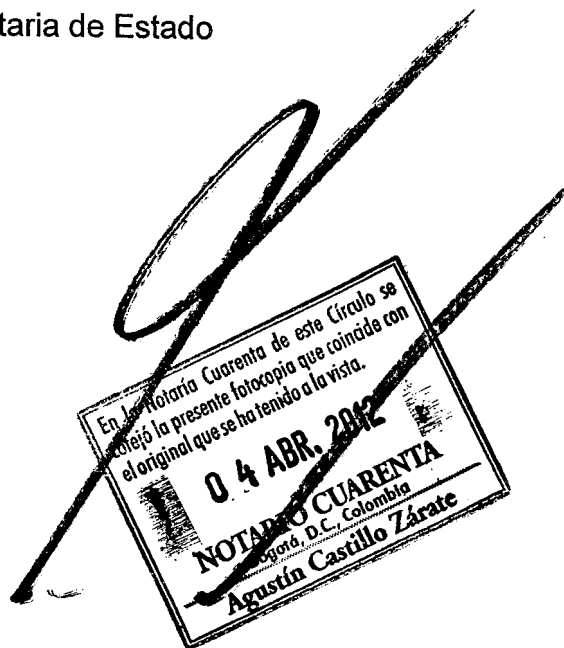
(Convención de La Haya del 5 de Octubre de 1961)

1. País: Estados Unidos de América
Este documento público
2. ha sido firmado por Harriet Smith Windsor
3. actuando en capacidad de Secretaria de Estado de Delaware
4. lleva el sello/timbre de la Oficina del Secretario de Estado

Certificado

5. en Dover, Delaware
6. el veinticuatro de mayo, A. D. 2005
7. por el Secretario de Estado, Departamento de Estado de Delaware
8. No. 0254031
9. Sello/timbre
10. Firma

Harriet Smith Windsor (Firma)
Secretaria de Estado



DELAWARE
EL PRIMER ESTADO

YO, HARRIET SMITH WINDSOR, SECRETARIA DE ESTADO DEL ESTADO DE DELAWARE, CERTIFICO POR LA PRESENTE QUE EL ANEXO ES UNA COPIA AUTÉNTICA Y CORRECTA DEL CERTIFICADO VUELTO A REDACTAR DE "GENENTECH, INC", PRESENTADO EN ESTA OFICINA EL DECIMOQUINTO DIA DE MAYO, A. D. 2000, A LAS 5 EN PUNTO DE LA TARDE.



Harriet Smith Windsor (Firma)
Harriet Smith Windsor, Secretaria de Estado
AUTENTICACIÓN: 3900385

FECHA: 05 - 24 - 05

CERTIFICADO DE ENMIENDA DEL
CERTIFICADO DE INCORPORACIÓN
CORREGIDO Y VUELTO A REDACTAR

Genentech, Inc. una corporación organizada y existente bajo y por virtud de la Ley General de Corporación del Estado de Delaware.

CERTIFICA POR LA PRESENTE:

PRIMERO: Que en una reunión de la Junta Directiva de Genentech, Inc. se adoptaron debidamente resoluciones que establecen una enmienda propuesta del certificado de Incorporación Corregido y vuelto a Redactar de dicha corporación, declarando dicha enmienda como aconsejable y llamando a una reunión de accionistas de dicha corporación para consideración de la misma. La resolución establece la enmienda propuesta de la siguiente manera:

RESUELVE, que el Certificado de Incorporación Corregido y vuelto a Redactar de esta corporación se enmienda cambiando "la Sección 4.01(a)" del Artículo allí numerado "4" tal que, como se enmienda, dicha Sección de dicho Artículo se lea de la siguiente manera:

SECCION 4.01. *Acciones de Capital.* (a) la Corporación está autorizada a emitir dos clases de acciones que deben designarse, respectivamente, acciones preferenciales y acciones comunes. El número total de acciones que la Corporación esta autorizada a emitir es de setecientos millones (700,000,000) de acciones. Cien millones (100,000,000) de acciones serán designadas acciones preferenciales, por un valor de \$0.02 por acción (**Acción Preferencial**). Seiscientos millones (600,000,000) de acciones serán designadas acciones comunes, por un valor de \$0.02 por acción (**Acción Común**). La acción común de la Corporación será toda de una misma clase.

SEGUNDO: Que por lo tanto, de acuerdo con la resolución de su Junta Directiva, la reunión ordinaria de accionistas de dicha corporación se convocó debidamente y se sostuvo al ser anunciada de acuerdo con la sección 222 de la Ley General de Corporación del Estado de Delaware, en donde el número necesario de acciones requerido por los estatutos votaron a favor de la enmienda.

NOTARIO CUARENTA
Bogotá, D.C. Colombia
Martín Castillo Zárate
04-ABR. 2012

TERCERO: Que dicha enmienda se adoptó debidamente de acuerdo con lo previsto en la Sección 242 de la Ley General de Corporación del Estado de Delaware.

CUARTO: Que el capital de dicha corporación no será reducido bajo o por razón de dicha enmienda

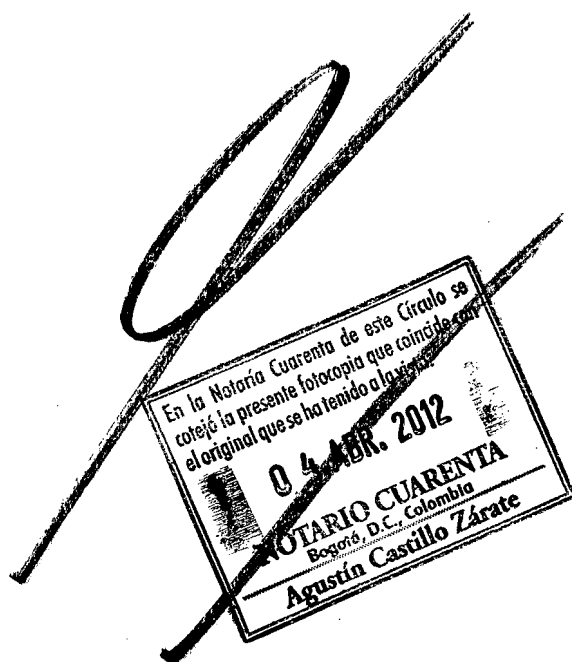
EN TESTIMONIO DE LO CUAL, dicha Genentech, Inc. ha causado este Certificado de Enmienda para que sea firmado por Stephen G. Juelsgaard, un Funcionario Autorizado, este 15 de Mayo de 2000.

GENENTECH, INC.

Por: (Firma)

Nombre: Stephen G. Juelsgaard

Título: Vicepresidente, Consejo
y Secretaría General.



Apostille

(Convention de La Haye du 5 Octobre 1961)

1. Country: United States of America
2. This public document:
has been signed by Harriet Smith Windsor
3. acting in the capacity of Secretary of State of Delaware
4. bears the seal/stamp of Office of Secretary of State

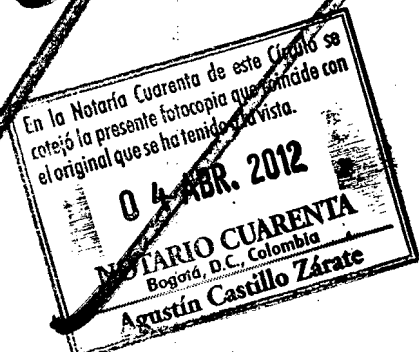
Certified

5. at Dover, Delaware
6. the twenty-fourth day of May, A.D: 2005
7. by Secretary of State, Delaware Department of State
8. No. 0254033
9. Seal/Stamp:



10. Signature:

Harriet Smith Windsor
Secretary of State

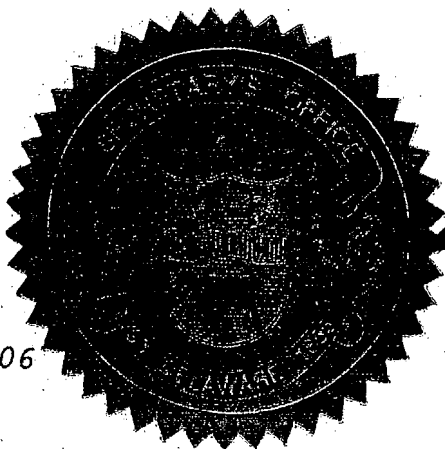


Delaware

PAGE 1

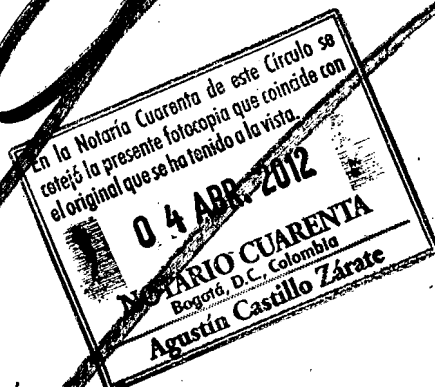
The First State

I, HARRIET SMITH WINDSOR, SECRETARY OF STATE OF THE STATE OF DELAWARE, DO HEREBY CERTIFY THE ATTACHED IS A TRUE AND CORRECT COPY OF THE CERTIFICATE OF AMENDMENT OF "GENENTECH, INC.", FILED IN THIS OFFICE ON THE SIXTEENTH DAY OF APRIL, A.D. 2004, AT 7:39 O'CLOCK P.M.



2112549

050426506



Harriet Smith Windsor

Harriet Smith Windsor, Secretary of State
AUTHENTICATION: 3900387

DATE: 05-24-05

CERTIFICATE OF THIRD AMENDMENT
OF AMENDED AND RESTATED
CERTIFICATE OF INCORPORATION

Genentech, Inc., a corporation organized and existing under and by virtue of the General Corporation Law of the State of Delaware,

DOES HEREBY CERTIFY:

FIRST: That at a meeting of the Board of Directors of Genentech, Inc. resolutions were duly adopted setting forth a proposed amendment of the Amended and Restated Certificate of Incorporation of said corporation, declaring said amendment to be advisable and calling a meeting of the stockholders of said corporation for consideration thereof. The resolution setting forth the proposed amendment is as follows:

RESOLVED, that the Amended and Restated Certificate of Incorporation of this corporation be amended by changing "Section 4.01(a)" of the Article thereof numbered "4" so that, as amended, said Section of said Article shall be and read as follows:

Section 4.01. *Capital Stock.* (a) The Corporation is authorized to issue two classes of stock to be designated, respectively, preferred stock and common stock. The total number of shares which the Corporation is authorized to issue is three billion one hundred million (3,100,000,000) shares. One hundred million (100,000,000) shares shall be designated preferred stock, par value \$0.02 per share ("Preferred Stock"). Three billion (3,000,000,000) shares shall be designated common stock, par value \$0.02 per share ("Common Stock"). The common stock of the Corporation shall be all of one class.

SECOND: That thereafter, pursuant to resolution of its Board of Directors, the regular meeting of the stockholders of said corporation was duly called and held upon notice in accordance with Section 222 of the General Corporation Law of the State of Delaware at which meeting the necessary number of shares as required by statute were voted in favor of the amendment.

THIRD: That said amendment was duly adopted in accordance with the provisions of Section 242 of the General Corporation Law of the State of Delaware.

FOURTH: That the capital of said corporation shall not be reduced under or by reason of said amendment.

IN WITNESS WHEREOF, said Genentech, Inc. has caused this Third Certificate of Amendment to be signed by Stephen G. Juelsgaard, an Authorized Officer, this 16th day of April, 2004.

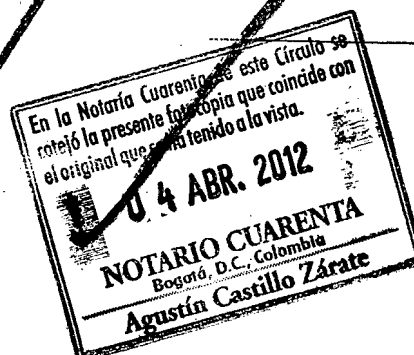
GENENTECH, INC.

By:

Name: Stephen G. Juelsgaard

Title: Executive Vice President, General Counsel
and Secretary

#153087



TRADUCCION AL ESPAÑOL del Certificado de Enmienda de Genentech, Inc.

APOSTILLA

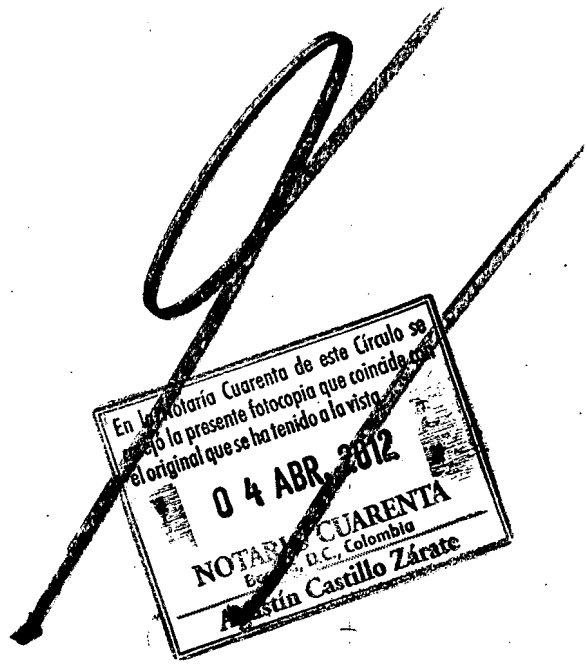
(Convención de La Haya del 5 de Octubre de 1961)

1. País: Estados Unidos de América
- Este documento público
2. ha sido firmado por Harriet Smith Windsor
3. actuando en capacidad de Secretaria de Estado de Delaware
4. lleva el sello/timbre de la Oficina del Secretario de Estado

Certificado

5. en Dover, Delaware
6. el veinticuatro de mayo, A. D. 2005
7. por el Secretario de Estado, Departamento de Estado de Delaware
8. No. 0254033
9. Sello/timbre
10. Firma

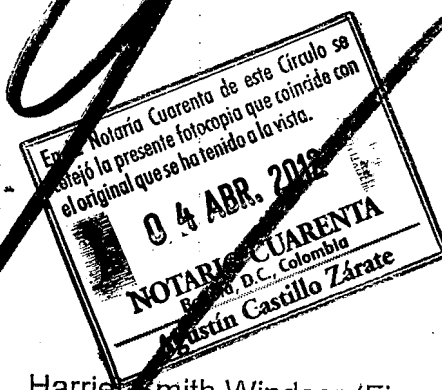
Harriet Smith Windsor (Firma)
Secretaria de Estado



192

DELAWARE
EL PRIMER ESTADO

YO, HARRIET SMITH WINDSOR, SECRETARIA DE ESTADO DEL ESTADO DE DELAWARE, CERTIFICO POR LA PRESENTE QUE EL ANEXO ES UNA COPIA AUTÉNTICA Y CORRECTA DEL CERTIFICADO DE ENMIENDA DE "GENENTECH, INC", PRESENTADO EN ESTA OFICINA EL DECIMOSEXTO DIA DE ABRIL, A. D. 2004, A LAS 7:39 EN PUNTO DE LA TARDE.



Harriet Smith Windsor (Firma)
Harriet Smith Windsor, Secretaria de Estado

CERTIFICADO DE TERCERA ENMIENDA DEL
CERTIFICADO DE INCORPORACIÓN
CORREGIDO Y VUELTO A REDACTAR

Genentech, Inc. una corporación organizada y existente bajo y por virtud de la Ley General de Corporación del Estado de Delaware.

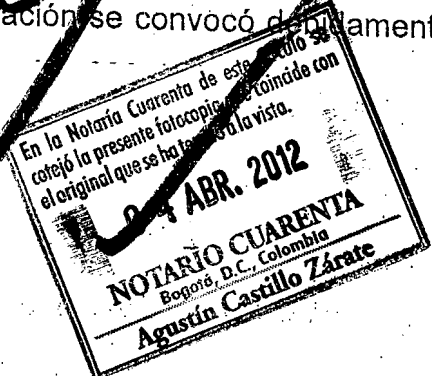
CERTIFICA POR LA PRESENTE:

PRIMERO: Que en una reunión de la Junta Directiva de Genentech, Inc. se adoptaron debidamente resoluciones que establecen una enmienda propuesta del certificado de Incorporación Corregido y vuelto a Redactar de dicha corporación, declarando dicha enmienda como aconsejable y llamando a una reunión de accionistas de dicha corporación para consideración de la misma. La resolución establece la enmienda propuesta de la siguiente manera:

RESUELVE, que el Certificado de Incorporación Corregido y vuelto a Redactar de esta corporación se enmienda cambiando "la Sección 4.01(a)" del Artículo allí numerado "4" tal que, como se enmienda, dicha Sección de dicho Artículo se lea de la siguiente manera:

SECCION 4.01. *Acciones de Capital.* (a) la Corporación está autorizada a emitir dos clases de acciones que deben designarse, respectivamente, acciones preferenciales y acciones comunes. El número total de acciones que la Corporación esta autorizada a emitir es de tres mil cien millones (3,100,000,000) de acciones. Cien millones (100,000,000) de acciones serán designadas acciones preferenciales, por un valor de \$0.02 por acción ("Acción Preferencial"). Tres mil millones (3,000,000,000) de acciones serán designadas acciones comunes, por un valor de \$0.02 por acción ("Acción Común"). La acción común de la Corporación será toda de una misma clase.

SEGUNDO: Que por lo tanto, de acuerdo con la resolución de su Junta Directiva, la reunión ordinaria de accionistas de dicha corporación se convocó debidamente.



194

TERCERO: Que dicha enmienda se adoptó debidamente de acuerdo con lo previsto en la Sección 242 de la Ley General de Corporación del Estado de Delaware.

CUARTO: Que el capital de dicha corporación no será reducido bajo o por razón de dicha enmienda

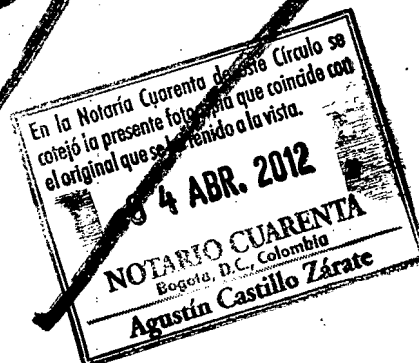
EN TESTIMONIO DE LO CUAL, dicha Genentech, Inc. ha causado este Certificado de Enmienda para que sea firmado por Stephen G. Juelsgaard, un Funcionario Autorizado, este 16 de Abril de 2004.

GENENTECH, INC.

Por: (Firma)

Nombre: Stephen G. Juelsgaard

Título: Vicepresidente, Consejo
y Secretaría General.



97 200
4/4 195

Apostille

(Convention de La Haye du 5 Octobre 1961)

1. Country: United States of America

This public document:

2. has been signed by Harriet Smith Windsor

3. acting in the capacity of Secretary of State of Delaware

4. bears the seal/stamp of Office of Secretary of State

Certified

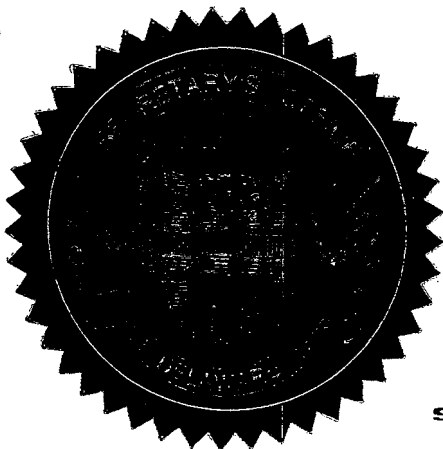
5. at Dover, Delaware

6. the twenty-fourth day of May, A.D. 2005

7. by Secretary of State, Delaware Department of State

8. No. 0254032

9. Seal/Stamp:



10. Signature:

Harriet Smith Windsor
Secretary of State

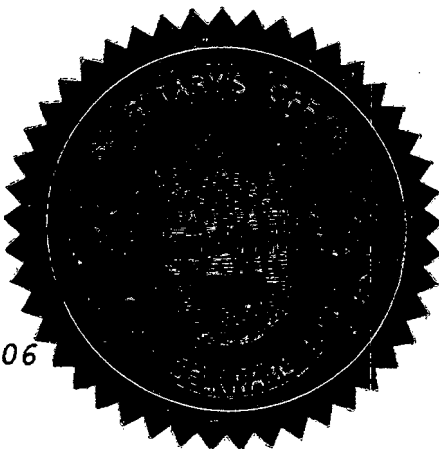


Delaware

PAGE 1

The First State

I, HARRIET SMITH WINDSOR, SECRETARY OF STATE OF THE STATE OF DELAWARE, DO HEREBY CERTIFY THE ATTACHED IS A TRUE AND CORRECT COPY OF THE CERTIFICATE OF AMENDMENT OF "GENENTECH, INC.", FILED IN THIS OFFICE ON THE TENTH DAY OF MAY, A.D. 2001, AT 2:05 O'CLOCK P.M.



2112549

050426506

En la Notaría Cuarenta de este Circolo se
cotejó la presente fotocopia que comparece con
el original que se ha tenido en vista.
10-4 ABR. 2012
NOTARIO CUARENTA
Bogotá, D.C., Colombia
Agustín Castillo Zárate

Harriet Smith Windsor
Harriet Smith Windsor, Secretary of State
AUTHENTICATION: 3900386

DATE: 05-24-05

CERTIFICATE OF AMENDMENT
OF AMENDED AND RESTATED
CERTIFICATE OF INCORPORATION

Genentech, Inc. a corporation organized and existing under and by virtue of the General Corporation Law of the State of Delaware.

DOES HEREBY CERTIFY:

FIRST: That at a meeting of the Board of Directors of Genentech, Inc. resolutions were duly adopted setting forth a proposed amendment of the Amended and Restated Certificate of Incorporation of said corporation, declaring said amendment to be advisable and calling a meeting of the stockholders of said corporation for consideration thereof. The resolution setting forth the proposed amendment is as follows:

RESOLVED, that the Amended and Restated Certificate of Incorporation of this corporation be amended by changing "Section 4.01(a)" of the Article thereof numbered "4" so that, as amended, said Section of said Article shall be and read as follows:

"Section 4.01. *Capital Stock.* (a) The Corporation is authorized to issue two classes of stock to be designated, respectively, preferred stock and common stock. The total number of shares which the Corporation is authorized to issue is one billion three hundred million (1,300,000,000) shares. One hundred million (100,000,000) shares shall be designated preferred stock, par value \$0.02 per share ("Preferred Stock"). One billion two hundred million (1,200,000,000) shares shall be designated common stock, par value \$0.02 per share ("Common Stock"). The Common Stock of the Corporation shall be all of one class."

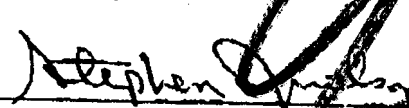
SECOND: That thereafter, pursuant to resolution of its Board of Directors, the regular meeting of the stockholders of said corporation was duly called and held upon notice in accordance with Section 222 of the General Corporation Law of the State of Delaware at which meeting the necessary number of shares as required by statute were voted in favor of the amendment.

THIRD: That said amendment was duly adopted in accordance with the provisions of Section 242 of the General Corporation Law of the State of Delaware.

FOURTH: That the capital of said corporation shall not be reduced under or by reason of said amendment.

IN WITNESS WHEREOF, said Genentech, Inc. has caused this Certificate of Amendment to be signed by Stephen G. Juelsgaard, an Authorized Officer, this 10th day of May, 2001.

GENENTECH, INC.

By: 
Name: Stephen G. Juelsgaard
Title: Senior Vice President
and Secretary

80747



TRADUCCION AL ESPAÑOL del Certificado de Enmienda de Genentech, Inc.

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 Harriet Smith Windsor
3. actuando en capacidad de Secretaria de Estado de Delaware
4. lleva el sello/timbre de la Oficina del Secretario de Estado

Certificado

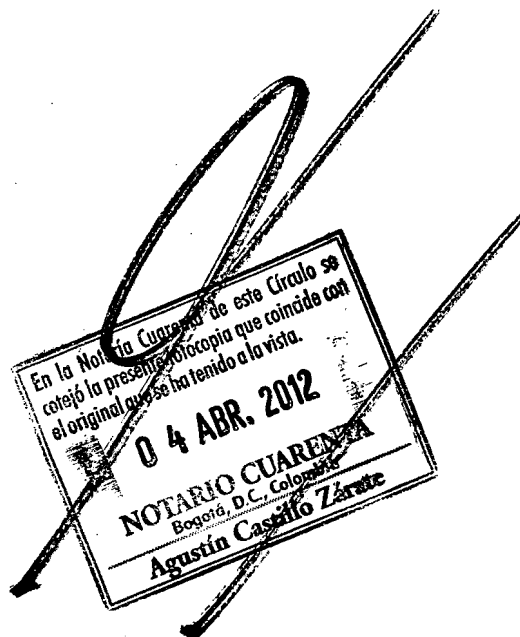
5. en Dover, Delaware
6. el veinticuatro de mayo, A. D. 2005
7. por el Secretario de Estado, Departamento de Estado de Delaware
8. No. 0254032
9. Sello/timbre
10. Firma

Harriet Smith Windsor (Firma)
Secretaria de Estado



DELAWARE
EL PRIMER ESTADO

YO, HARRIET SMITH WINDSOR, SECRETARIA DE ESTADO DEL ESTADO DE DELAWARE, CERTIFICO POR LA PRESENTE QUE EL ANEXO ES UNA COPIA AUTÉNTICA Y CORRECTA DEL CERTIFICADO DE ENMIENDA DE "GENENTECH, INC", PRESENTADO EN ESTA OFICINA EL DECIMO DIA DE MAYO, A. D. 2001, A LAS 2:05 EN PUNTO DE LA TARDE.



Harriet Smith Windsor (Firma)
Harriet Smith Windsor, Secretaria de Estado
AUTENTICACIÓN: 3900386

FECHA: 05 - 24 - 05

CERTIFICADO DE TERCERA ENMIENDA DEL
CERTIFICADO DE INCORPORACIÓN
CORREGIDO Y VUELTO A REDACTAR

Genentech, Inc. una corporación organizada y existente bajo y por virtud de la Ley General de Corporación del Estado de Delaware.

CERTIFICA POR LA PRESENTE:

PRIMERO: Que en una reunión de la Junta Directiva de Genentech, Inc. se adoptaron debidamente resoluciones que establecen una enmienda propuesta del certificado de Incorporación Corregido y vuelto a Redactar de dicha corporación, declarando dicha enmienda como aconsejable y llamando a una reunión de accionistas de dicha corporación para consideración de la misma. La resolución establece la enmienda propuesta de la siguiente manera:

RESUELVE, que el Certificado de Incorporación Corregido y vuelto a Redactar de esta corporación se enmienda cambiando "la Sección 4.01(a)" del Artículo allí numerado "4" tal que, como se enmienda, dicha Sección de dicho Artículo se lea de la siguiente manera:

SECCION 4.01. *Acciones de Capital.* (a) la Corporación está autorizada a emitir dos clases de acciones que deben designarse, respectivamente, acciones preferenciales y acciones comunes. El número total de acciones que la Corporación esta autorizada a emitir es de mil trescientos millones (1,300,000,000) de acciones. Cien millones (100,000,000) de acciones serán designadas acciones preferenciales, por un valor de \$0.02 por acción ("Acción Preferencial"). Mil doscientos millones (1,200,000,000) de acciones serán designadas acciones comunes, por un valor de \$0.02 por acción ("Acción Común"). La acción común de la Corporación será toda de una misma clase.

SEGUNDO: Que por lo tanto, de acuerdo con la resolución de su Junta Directiva, la reunión ordinaria de accionistas de dicha corporación se convocó debidamente y se sostuvo al ser anunciada de acuerdo con la sección 222 de la Ley General de Corporación del Estado de Delaware, en donde el número necesario de acciones requerido por los estatutos votaron a favor de la enmienda.



TERCERO: Que dicha enmienda se adoptó debidamente de acuerdo con lo previsto en la Sección 242 de la Ley General de Corporación del Estado de Delaware.

CUARTO: Que el capital de dicha corporación no será reducido bajo o por razón de dicha enmienda

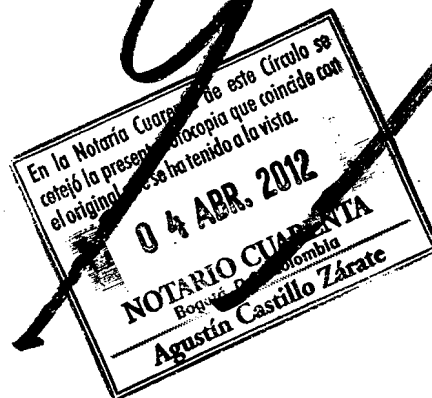
EN TESTIMONIO DE LO CUAL, dicha Genentech, Inc. ha causado este Certificado de Enmienda para que sea firmado por Stephen G. Juelsgaard, un Funcionario Autorizado, este 10 de Mayo de 2001.

GENENTECH, INC.

Por: (Firma)

Nombre: Stephen G. Juelsgaard

Título: Vicepresidente, Consejo
y Secretaría General.





No. 12-057624- -00000-0000

Fecha: 2012-04-09 16:06:34 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 201

PATENTE DE INVENCION ☐

MODELO

☐	Indicación que se solicita una patente.
☐	Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
☐	Descripción de la invención
☐	Dibujos de ser estos pertinentes
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas (De ser el caso formato de descuento)
Completa ☐	Incompleta ☐

PATENTE DE INVENCION PCT ☒ MODELO DE UTILIDAD PCT ☐ Art.33 Decisión 486/00, Circular Única

☒	Indicación que se solicita una PCT
☒	Copia de la solicitud en español, tal como fue presentada inicialmente (capítulo descriptivo, reivindicatorio, resumen)
☒	Dibujos de ser estos pertinentes
☒	Comprobante de pago de las tasas establecidas (de ser el caso formato de descuento)
Completa ☐	Incompleta ☐

DISEÑO INDUSTRIAL ☐

(Art. 119 Decisión 486/00)

☐	Indicación que se solicita Diseño industrial
☐	Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
☐	Representación gráfica y fotográfica del Diseño industrial o muestra del material que incorpora el diseño
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas
Completa ☐	Incompleta ☐

ESQUEMA DE TRAZADO ☐

(Art. 92 Decisión 486/00)

☐	Indicación que se solicita un esquema de trazado
☐	Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
☐	Representación gráfica de un esquema de trazado
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas
Completa ☐	Incompleta ☐