B.T.

Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

Delegatura de propiedad Industrial

División de Nuevas Creaciones

PCT

SOLICITUD

PATENTE DE INVENCIÓN

06-38331

21. **EXPEDIENTE No.** _____

54. **TÍTULO** *MIMETICUERPOS HUMANOS CENTRALES DE LA REGION DE BISAGRA, MIMETICOS DE LA ERITROPOYETINA, COMPOSICIONES, METODOS Y USOS.*

51. **CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL** A 61 K

71. **SOLICITANTE** *CENTOCOR, INC.*

DOMICILIO *MALVERN, PENNSYLVANIA, ESTADOS UNIDOS DE AMERICA*

74. **APODERADO** *JIMENA ESCOBAR URIBE*

22. **BOGOTÁ, D. C.,** *Abril 24-2006*

COMPLEMENTO

(FORMA P-10)

S.S

90971 -Imprenta nacional de Colombia- 2004

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
Rad: 06-038331- -00000-0000 Fecr: 2006-04-24 14:04:06
Dep: 2020 NUECREACIONES
Tra: 11 PATENTE/YII Eve 378 FASENACIONALI
Act 411 PRESENTACION Folios 343

Industria y Com rcio
SUPERINTENDENCIA

FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD DE PATENTE
PCT
ENTRADA EN FASE NACIONAL 30-04-06

1 SOLICITUD DE:

[x] Patente de Invención [ ] Patente de Modelo de Utilidad

[X] Capitulo I [ ] Capitulo II

2 SOLICITANTE (71)	Nombre: **Centocor, Inc.** Dirección: 200 Great Valley Parkway, Pennsylvania 19355, Nacionalidad o Domicilio: Malvern, Pennsylvania, Estados Unidos Lugar de Constitución : Pennsylvania, Estados Unidos de América Teléfono: Fax: E-mail	**IDENTIFICACIÓN** C.C. [ ] NIT [ ] C.E. [ ] Otro [ ] Número
3 REPRESENTANTE APODERADO (74)	Nombre: JIMENA ESCOBAR URIBE Dirección: Cra. 11A No. 94-76 (Of. 305) Teléfono: 6 162051/61 Fax: 6 161889 E-mail: tm-patent@escobaruribe.com	**IDENTIFICACIÓN** C.C. [X] NIT [ ] C.E. [ ] Otro [ ] Número 39.779.452T.P 68228
4 INVENTOR (ES) (72)	Nombre: **VER ANEXOS** Dirección: Nacionalidad o domicilio: Folio 3	

5 PCT (86)

Solicitud Internacional No. PCT/US2004/028976 Fecha 03 de septiembre de 2004

Publicación Internacional No. WO 2005/032460 A2 Fecha 14 de abril de 2005

6 TITULO (54) MIMETICUERPOS HUMANOS CENTRALES DE LA REGION DE BISAGRA, MIMETICOS DE LA ERITROPOYETINA, COMPOSICIONES, METODOS Y USOS.

7 Clasificación Internacional (51) A61K

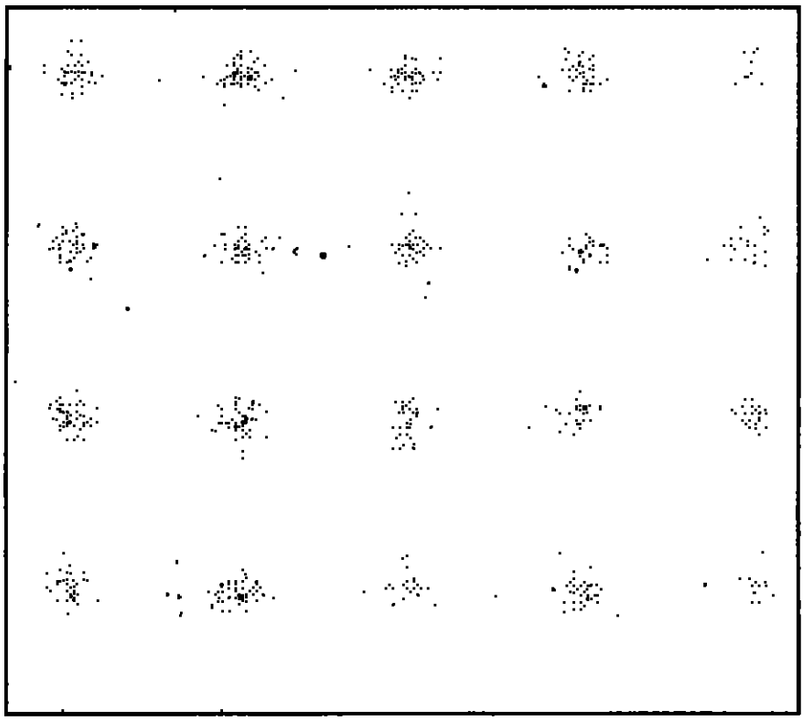
8 Prioridad SI [X] NO [ ]	(33) País de Origen	(32) Fecha	(31) Número de Solicitud
	Estados Unidos de América	30 de septiembre de 2003	60/507.349

9 Comprobante de pago No. 06-24706 **Fecha** 29 de marzo de 2006

10 ANEXOS

- [x] Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud
- [x] Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica
- [ ] Poderes si fuere el caso
- [x] Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante
- [ ] Declaraciones
- [ ] Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- [x] Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- [ ] Copia del examen preliminar internacional efectuado por la Autoridad Internacional de Examen Preliminar (IPEA).
- [ ] Traducción del examen preliminar internacional efectuado por la IPEA
- [ ] De ser el caso copia de contrato de acceso.
- [ ] De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas
- [ ] De ser el caso, certificado de deposito del material biológico
- [ ] Arte final 12 X 12 .
- [ ] De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.
- [ ] De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional
- [ ] Otros "Opinión escrita".

11 FIGURA CARACTERÍSTICA



12 Solicito la concesión de la patente

NOMBRE: JIMENA ESCOBAR URIBE

FIRMA:

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

As. 2957/PCT

2957

2

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Rad: 06-038331--00000-0000 Fec: 2006-04-24 14:03:0
Dep: 2020 NUEVCREACIONES
Tra: 11 PATENTE/YI Efe 378 FASENACIONALI
Act 411 PRESENTACION Folios: 343

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 06 - 24,706
FECHA : MARZO 29 DE 2006

C O N S I G N A C I O N

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
ESCOBAR URIBE ASOCIADOS	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00110-6	51162175	29/03/2006	8,899,500.00

C O N C E P T O

CANT.	REMTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	463,000.00
		TOTAL : $	463,000.00

SON: CUATROCIENTOS SESENTA Y TRES MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

[redacted]O DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No._____

ANEXOS

INVENTORES

1.) **HEAVNER, George**
(6 Oak Glen Drive, Malvern, Pennsylvania 19355, Estados Unidos de América);

2.) **KNIGHT, David, M.**
(2430 Whitehorse Road, Berwyn, Pennsylvania 19312, Estados Unidos de América);

3.) **SCALLON, Bernard**
(139 Hemlock Drive, Collegeville, Pennsylvania 19426, Estados Unidos de América);

4.) **GHRAYEB, John**
(6 Summerhill Drive, Downingtown, Pennsylvania 29335, Estados Unidos de América).

5.) **NESSPOR, Thomas, C.**
(22 King Way, Limerick, Pennsylvania 19468, Estados Unidos de América);

6.) **HUANG, Chichi**
(69 Highpoint Drive, Berwyn, Pennsylvania 19312, Estados Unidos de América).

Solicito expresamente a nombre de la sociedad **CENTOCOR, INC,** sociedad constituida de conformidad con las leyes del Estado de Pennsylvania, Estados Unidos de América, domiciliada en 200 Great Valley Parkway, Pennsylvania 19355, Estados Unidos de América, el otorgamiento de Patente para la invención titulada **"MIMETICUERPOS HUMANOS CENTRALES DE LA REGION DE BISAGRA, MIMETICOS DE LA ERITROPOYETINA, COMPOSICIONES, METODOS Y USOS ".**

Clase: A61K

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

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

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

HAY UNA FIRMA ILEGIBLE AL FINAL DEL DOCUMENTO
Correspondiente al señor Guy Kevin Townsend
Subsecretario
Firmado en New Brunswick, N.J. Estados Unidos
El 27 de marzo de 2003.

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

EN PÁGINA ADJUNTA HAY APOSTILLA

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

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

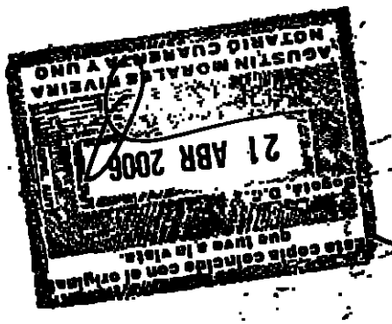
CERTIFICADO

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

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

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

Esta copia coincide con el original que tuve a la vista.
Bogotá, D.C.
21 ABR 2006
AGUSTIN MORALES RIVEIRA
NOTARIO CUARENTA Y UNO



MINISTERIO DE
RELACIONES EXTERIORES

A.M. 207417

CUYA FIRMA APARECE EN EL
DOCUMENTO DESEMPEÑA
LAS FUNCIONES INDICADAS

NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

2003 MAY 29 A 11:10

JEFE DE LEGALIZACIONES
BOGOTA D.C.

APOSTILLE

(CONVENTION DE LA HAYE DU 5 OCTOBRE 1961)

1. COUNTRY: UNITED STATES OF AMERICA

2. THIS PUBLIC DOCUMENT HAS BEEN SIGNED BY:
CHRISTINA A CLICKNER

3. ACTING IN THE CAPACITY OF:
NOTARY PUBLIC OF NEW JERSEY

4. BEARS THE SEAL/STAMP OF:
CHRISTINA A CLICKNER, NOTARY

CERTIFIED

5. AT TRENTON, NEW JERSEY

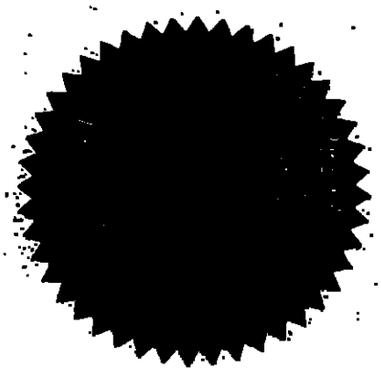
6. THE 24TH DAY OF APRIL 2003

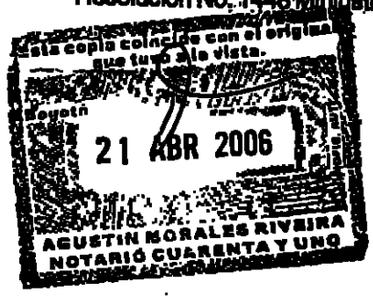
7. BY: John E McCormac, CPA, NEW JERSEY TREASURER

8. NO. A170758

9. SEAL/STAMP:

10. SIGNATURE





Resolución No. 1448 Minjusticia

CEN 186/249 COL(L)

7

POWER OF ATTORNEY

The undersigned GUY KEVIN TOWNSEND

acting on behalf of and representing CENTOCOR, INC.

, a company organised and existing under the laws of PENNSYLVANIA
domiciled in
200 GREAT VALLEY PARKWAY
MALVERN, PENNSYLVANIA 19355

hereby appoints
JIMENA ESCOBAR-URIBE and/or IGNACIO ESCOBAR-URIBE
domiciled at Bogota, Colombia.
CARRERA 11 A No. 94-76 OF. 305-306

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

Signed at NEW BRUNSWICK, N.J., USA

on MARCH 27, 2003

GUY KEVIN TOWNSEND
ASSISTANT SECRETARY

DOCUMENTO DE PODER

El suscrito GUY KEVIN TOWNSEND

otorgando en nombre y representación de CENTOCOR, INC.

, una compañía organizada y existente bajo las leyes de PENNSYLVANIA
con domicilio en
200 GREAT VALLEY PARKWAY
MALVERN, PENNSYLVANIA 19355
nombra a
JIMENA ESCOBAR-URIBE y/o IGNACIO ESCOBAR-URIBE
domiciliados en Bogotá, Colombia:
CARRERA 11 A No. 94-76 OF. 305-306

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

Firmado en NEW BRUNSWICK, N.J., USA

el 27 de Marzo de 2003

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

Esta copia es fiel y exacta de la que tuve a la vista:
ABR 2006
CARLES RIVERA
UNO

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

CEN 186/249 COLOMBIA

CERTIFICADO DE NOTARIO PÚBLICO

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

1. CENTOCOR INC. Es una compañía del Estado de Pennsylvania

2. GUY KEVIN TOWSEND es el Subsecretario de CENTOCOR., INC. y está autorizado para ejecutar el poder fechado el 27 de marzo de 2003 a favor de JIMENA ESCOBAR-URIBE Y/O IGNACIO ESCOBAR-URIBE.

Ejecutado EL 27 de marzo de 2003-05-25

Firmado por
CHRISTINA A. CLICKNER

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

EN PÁGINA ADJUNTA HAY APOSTILLA
APOSTILLA
(Convención de la Haya del 5 de octubre de 1961)

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

CERTIFICADO

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

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

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

Esta copia coincide con el original que tuve a la vista.
Bogotá
21 ABR 2006
AGUSTIN MORALES RIVEIRA
NOTARIO CUARENTA Y UNO

NO SE ASUME RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

2006 MAY -2 A 11:10

JEFE DE LEGALIZACIONES
POR LA H.

MINISTERIO DE
RELACIONES EXTERIORES

H 074418

CUYA FIRMA APARECE EN EL
DOCUMENTO DESEMPEÑA
LAS FUNCIONES INDICADAS

21 ABR 2006

AGUSTIN MORAN RIVERA
NOTARIO CUARENTA Y UNO

APOSTILLE

(CONVENTION DE LA HAYE DU 5 OCTOBRE 1961)

1. COUNTRY: UNITED STATES OF AMERICA

2. THIS PUBLIC DOCUMENT HAS BEEN SIGNED BY:
CHRISTINA A CLICKNER

3. ACTING IN THE CAPACITY OF:
NOTARY PUBLIC OF NEW JERSEY

4. BEARS THE SEAL/STAMP OF:
CHRISTINA A CLICKNER, NOTARY

CERTIFIED

5. AT TRENTON, NEW JERSEY

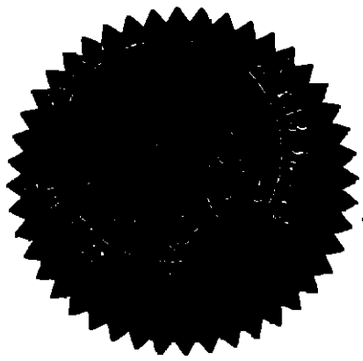
6. THE 24TH DAY OF APRIL 2003

7. BY: John E McCormac, CPA, NEW JERSEY TREASURER

8. NO. A170759

9. SEAL/STAMP:

10. SIGNATURE



Resolución No. 1448 Minjusticia

Esta copia coincide con el original que tuve a la vista.
Bogotá, D.C.
21 ABR 2006
AGUSTIN MORALES RIVEIRA
NOTARIO CUARENTA Y UNO

CEN 186/249 COLOMBIA

CERTIFICATION BY PUBLIC NOTARY

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

1. CENTOCOR, INC. is a corporation of the State of Pennsylvania.

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

Executed this 27th day of March, 2003

CHRISTINA A. CLICKNER

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



Folio 11 vuelto

87

RESUMEN DE LA INVENCION

La presente invención se relaciona con menos un nuevo mimeticuerpo humano central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada, incluyendo ácidos nucleicos aislados que codifican al menos un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada, un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada, vectores, células hospederas, animales o plantas transgénicos, y métodos para hacer y utilizar los mismos, incluyendo composiciones, métodos y dispositivos terapéuticos.

DH

P06/458F

MIMETICUERPOS HUMANOS CENTRALES DE LA REGION DE BISAGRA, MIMETICOS DE LA ERITROPOYETINA, COMPOSICIONES, METODOS Y USOS

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

CAMPO DE LA INVENCION

La presente invención se relaciona con mimeticuerpos centrales de la región de bisagra, miméticos de la EPO, de mamífero, porciones específicas y variantes específicas para proteínas biológicamente activas, fragmentos o ligandos, ácidos nucleicos codificantes y complementarios de un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO, células hospederas y métodos para hacer y utilizar los mismos, incluyendo, formulaciones, administración y dispositivos terapéuticos.

TECNICA RELACIONADA

Las proteínas recombinantes son una clase emergente de agentes terapéuticos. Tales agentes terapéuticos recombinantes han producido avances en la formulación y modificación química de las proteínas. Tales modificaciones pueden mejorar potencialmente la utilidad terapéutica de las proteínas terapéuticas, tales como incrementando las vidas medias (por

ejemplo, bloqueando su exposición a las enzimas proteolíticas), mejorando la actividad biológica o reduciendo los efectos laterales indeseados. Una modificación tal el es uso de fragmentos de inmunoglobulina fusionados a proteínas receptoras, tales como un enteracept. Las proteínas terapéuticas también se han construido utilizando el dominio Fc para intentar proporcionar una vida media más larga o para incorporar funciones tales como unión al receptor Fc, unión a la proteína A y fijación del complemento. Un papel específico y vital del sistema hematopoyético de mamíferos es la producción de eritrocitos o células rojas sanguíneas, las cuales transportan oxígeno a los varios tejidos del cuerpo del animal. El procedimiento para producir eritrocitos ("eritropoyesis") ocurre continuamente durante la vida del animal para contrarrestar la destrucción de los eritrocitos. La célula roja sanguínea típica tiene una vida relativamente corta, usualmente 100 a 120 días. La eritropoyesis es un mecanismo fisiológico controlado de manera precisa mediante el cual se produce suficiente número de eritrocitos para permitir la oxigenación adecuada del tejido, pero no tanto para impedir la circulación.

Se sabe ahora que la eritropoyesis está controlada principalmente por la eritropoyetina (EPO) polipeptídica, una glucoproteína ácida. La eritropoyetina se produce como el resultado de la expresión de un gen de una sola copia localizado en un cromosoma de un mamífero. La secuencia de aminoácidos para la EPO humana recombinante ("rHuEPO"), es sustancialmente idéntica a la secuencia de aminoácidos para la EPO obtenida

de fuentes urinarias humanas. Sin embargo, la glucosilación de la rHuEPO difiere de aquélla de la EPO urinaria y de la EPO humana en suero.

En un mamífero sano la EPO está presente en el plasma sanguíneo en concentraciones muy bajas, puesto que los tejidos están oxigenados de manera suficiente por el número de eritrocitos circulantes. La EPO presente estimula la producción de nuevos eritrocitos para reemplazar aquéllos perdidos debido al proceso de envejecimiento. Además, la producción de la EPO es estimulada bajo condiciones de hipoxia, en donde el suministro de oxígeno a los tejidos del cuerpo se reduce por debajo de los niveles fisiológicos normales a pesar de una perfusión adecuada del tejido por la sangre. La hipoxia puede causarse por hemorragia, destrucción de los eritrocitos inducida por radiación, varias anemias, gran altitud o largos periodos de inconsciencia. En contraste, si el número de células rojas sanguíneas en circulación excede el que se necesita para la oxigenación normal del tejido, la producción de la EPO se reduce.

Sin embargo, ciertos estados de enfermedad involucran eritropoyesis anormal. La EPO humana recombinante (rHuEPO), se está utilizando terapéuticamente en varios países. En los Estados Unidos, la Administración de Alimentos y Fármacos de los Estados Unidos (FDA), ha aprobado el uso de la rHuEPO para tratar la anemia asociada con la enfermedad renal en etapa terminal. Los pacientes que se someten a hemodiálisis para tratar este trastorno, típicamente sufren de anemia severa causada por la ruptura y la muerte prematura de los eritrocitos como resultado

del tratamiento de la diálisis. La EPO también es útil en el tratamiento de otros tipos de anemia. Por ejemplo, la anemia inducida por quimioterapia, la anemia asociada con mielodisplasia, aquéllas asociadas con varios trastornos congénitos, anemia relacionada con el SIDA y anemia asociada con la premadurez, pueden tratarse con la EPO. Además, la EPO puede jugar un papel en otras áreas, tales como ayudar a reestablecer más rápidamente un hematocrito normal en los pacientes con transplante de médula ósea, en pacientes que se preparan para transfusiones de sangre autóloga y en pacientes que sufren de trastornos de sobrecarga del hierro.

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

La eritropoyetina tiene una vida media relativamente corta. La eritropoyetina administrada intravenosamente se elimina a una velocidad consistente con una cinética de primer orden con una vida media circulante que varía de aproximadamente 3 a 4 horas en pacientes con CRF. Dentro del intervalo de la dosis terapéutica, los niveles detectables de eritropoyetina en el

plasma se mantienen durante al menos 24 horas. Después de la administración subcutánea de la eritropoyetina, los niveles máximos en suero se alcanzan en el transcurso de 5-24 horas y declinan lentamente después de esto.

Los peptidomiméticos pequeños de eritropoyetina se identificaron por varios grupos a través de la exploración de bibliotecas aleatorias de péptidos que muestran el fago para la afinidad del receptor de la eritropoyetina. Estas secuencias no tienen homología con la eritropoyetina. En los ensayos funcionales, varios de estos péptidos mostraron actividad, pero únicamente 1/100,000 de aquélla de la eritropoyetina recombinante. Aunque se han hecho varios intentos para incrementar la potencia de estos péptidos preparando dímeros o multímeros covalentes de los peptidomiméticos, estos compuestos son todavía 1,000-10,000 veces menos activos que la eritropoyetina en una base molar, y tienen vidas medias muy cortas, lo que los ha hecho no adecuados para uso como agentes terapéuticos.

En consecuencia, existe la necesidad de proporcionar versiones mejoradas y/o modificadas de las proteínas terapéuticas de la EPO, que superen uno o más de éstos y otros problemas conocidos en la técnica.

BREVE DESCRIPCION DE LA INVENCION

La presente invención proporciona mimeticuerpos humanos centrales de la región de bisagra, miméticos de la EPO, incluyendo inmunoglobulinas modificadas, productos de escisión y otras porciones y variantes especificadas de los mismos, así como composiciones de mimeticuerpos centrales de la región de bisagra, miméticos de la EPO, ácidos nucleicos codificantes o complementarios, vectores, células hospederas, composiciones, formulaciones, dispositivos, animales transgénicos, plantas transgénicas y métodos para hacer y utilizar los mismos, como se describe y/o habilita en la presente, en combinación con lo que se conoce en la técnica.

La presente invención también proporciona al menos un mimeticuerpo aislado central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada como se describe en la presente y/o como se conoce en la técnica. El mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO puede comprender opcionalmente al menos una región CH3 enlazada directamente con al menos una región CH2 enlazada directamente con al menos una porción de al menos una región de bisagra o un fragmento de la misma (H), enlazada directamente con una secuencia enlazante opcional (L), enlazada directamente a al menos un péptido terapéutico mimético de la EPO (P), opcionalmente, enlazado directamente además con al menos una porción de al menos una secuencia de un anticuerpo variable (V). En una modalidad preferida, un par de CH3-CH2-

región de la bisagra-enlazante-péptido terapéutico con una secuencia de anticuerpo N terminal, el par está enlazado opcionalmente por la asociación o un enlace covalente, tal como, de manera no exclusiva, al menos un enlace disulfuro Cys-Cys o al menos una CH4 u otra secuencia de inmunoglobulina. En una modalidad, un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO comprende la fórmula (I):

((V(m)-P(n)-L(o)-H(p)-CH2(q)-CH3(r))(s),

en donde V es al menos una porción de un término N de una región variable de inmunoglobulina, P es al menos un polipéptido mimético de la EPO bioactivo, L es al menos una secuencia enlazante, H es al menos una porción de una región variable de la inmunoglobulina, CH2 es al menos una porción de una región constante CH2 de la inmunoglobulina, CH3 es al menos una porción de una región constante CH3 de inmunoglobulina, m, n, o p, q, r y s pueden ser, de manera independiente, un entero entre 0, 1 ó 2 y 10, que imitan diferentes tipos de moléculas de inmunoglobulina, por ejemplo, de manera no exclusiva, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1, IgA2, IgM, IgD, IgE o cualquier subclase de las mismas y lo similar, o cualquier combinación de las mismas.

Así, un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO de la presente invención, imita al menos una porción de un anticuerpo o una estructura o función de la inmunoglobulina, con sus

propiedades y funciones inherentes, mientras que proporciona un péptido terapéutico y sus propiedades o actividades inherentes o adquiridas in vitro, in vivo o in situ. Las varias porciones del anticuerpo y las porciones del péptido terapéutico de al menos un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO de la presente invención, pueden variar como se describe en la presente en combinación con lo que se conoce en la técnica.

La presente invención proporciona, en un aspecto, moléculas aisladas de ácidos nucleicos que comprenden, son complementarias, tienen una identidad significativa o se hibridan a mimeticuerpos específicos que codifican el polinucleótido o porciones o variantes especificadas de los mismos, que comprenden al menos una secuencia, dominio, porción o variante especificada del mismos. La presente invención proporciona además vectores recombinantes que comprenden al menos una de las moléculas de ácido nucleico del mimeticuerpo aislado central de la región de bisagra, mimético de la EPO, células hospederas que contienen tales ácidos nucleicos y/o vectores recombinantes, así como métodos para hacer y/o utilizar tales ácidos nucleicos del mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO, vectores y/o células hospederas.

Al menos un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada de la invención, imita la unión de la porción P del mimeticuerpo a al menos un ligando, o tiene al menos una actividad biológica de al menos una proteína, subunidad, fragmento, porción o cualquier combinación de los mismos.

La presente invención también proporciona al menos un mimeticuerpo aislado central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada como se describe en la presente y/o como se conoce en la técnica, en donde el mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada tiene al menos un actividad, tal como, de manera no exclusiva, las actividades biológicas conocidas de al menos un péptido o polipéptido bioactivo que corresponde a la porción P de la Fórmula I. Por lo tanto, un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO puede explorarse para la actividad correspondiente de acuerdo con métodos conocidos, tales como al menos una actividad neutralizante hacia una proteína o fragmento de la misma.

La presente invención también proporciona al menos una composición que comprende (a) al menos un mimeticuerpo aislado central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada que codifica un ácido nucleico y/o un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO como se describe en la presente; y (b) un portador o diluyente adecuado. El portador o diluyente puede opcionalmente, ser farmacéuticamente aceptable, de acuerdo con los métodos conocidos. La composición puede comprender además opcionalmente, al menos un compuesto, proteína o composición adicional.

La presente invención también proporciona al menos un método para expresar al menos un mimeticuerpo central de la región de bisagra,

mimético de la EPO o una porción o variante especificada en una célula hospedera, que comprende cultivar una célula hospedera como se describe en la presente y/o como se conoce en la técnica, bajo condiciones en donde al menos un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada, se expresa en cantidades detectables y/o recuperables.

La presente invención proporciona además al menos un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO, una porción o variante especificada en un método o composición, cuando se administra en una cantidad terapéuticamente efectiva para la modulación, para tratar o reducir los síntomas de al menos un trastorno óseo y de las articulaciones, un trastorno cardiovascular, un trastorno dental u oral, un trastorno dermatológico, un trastorno del oído, nariz o garganta, un trastorno endocrino o metabólico, un trastorno gastrointestinal, un trastorno ginecológico, un trastorno hepático o biliar, un trastorno obstétrico, un trastorno hematológico, un trastorno inmunológico o alérgico, una enfermedad infecciosa, un trastorno muscoloesquelético, un trastorno oncológico, un trastorno neurológico, un trastorno nutritivo, un trastorno oftalmológico, un trastorno pediátrico, un trastorno por envenenamiento, un trastorno psiquiátrico, un trastorno renal, un trastorno pulmonar o cualquier otro trastorno conocido. (Véase, por ejemplo, The Merck Manual, 17a ed., Merck Research Laboratories, Merck and Co., Whitehouse Station, NJ (1999), Incorporado totalmente en la presente como referencia), conforme se necesite en muchas condiciones diferentes, tales

como de manera no exclusiva, antes de, posterior a, o durante una enfermedad relacionada o condición de tratamiento, como se conoce en la técnica.

La presente invención proporciona además al menos un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO, una porción o variante especificada en un método o composición, cuando se administra en una cantidad terapéuticamente efectiva, para la modulación, para tratar o reducir los síntomas de al menos una enfermedad inmune, cardiovascular, infecciosa, maligna y/o neurológica en una célula, tejido, órgano, animal o paciente y/o, conforme se necesite en muchas condiciones diferentes, tal como, de manera no exclusiva, antes de, posterior a, o durante una enfermedad relacionada o una condición de tratamiento, como se conoce en la técnica y/o como se describe en la presente.

La presente invención también proporciona al menos una composición, dispositivo y/o método para suministrar una cantidad terapéutica o profilácticamente efectiva de al menos un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada, de acuerdo con la presente invención.

La presente invención proporciona además al menos un anticuerpo antiidiotipo a al menos un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO de la presente invención. El anticuerpo antiidiotipo incluye cualquier proteína o péptido que contenga una molécula que comprende al menos una porción de una molécula de inmunoglobulina,

tal como, de manera no exclusiva, al menos una región determinante complementaria (CDR) de una cadena pesada o ligera o una porción que se une al ligando de la misma, una región variable de cadena pesada o cadena ligera, una región constante de cadena pesada o cadena ligera, una región del armazón o cualquier porción de la misma, que se une de manera competitiva a una región que se une al receptor de la EPO de al menos un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO de la presente invención. Tales anticuerpos de idiotipo de la invención pueden incluir o derivarse de cualquier mamífero, tal como, de manera no exclusiva, un humano, un ratón, un conejo, una rata, un roedor, un primate y lo similar.

La presente invención también proporciona al menos una molécula aislada de ácido nucleico que comprende, es complementaria o se hibrida a un polinucleótido que codifica al menos un anticuerpo antiidiotipo de un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO, que comprende al menos una secuencia, dominio, porción o variante especificada del mismo. La presente invención proporciona además vectores recombinantes que comprende las moléculas de ácido nucleico que codifican el anticuerpo antiidiotipo del mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO, células hospederas que contienen tales ácidos nucleicos y/o vectores recombinantes, así como métodos para hacer y/o utilizar tales ácidos nucleicos del anticuerpo antiidiotipo, vectores y/o células hospederas.

La presente invención también proporciona al menos un método para expresar al menos un mimeticuerpo central de la región de bisagra,

mimético de la EPO, o un anticuerpo antiidiotipo del mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO, en una célula hospedera, que comprende cultivar una célula hospedera como se describe en la presente, bajo condiciones en donde al menos un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o un anticuerpo antiidiotipo se expresa en cantidades detectables y/o recuperables.

La presente invención también proporciona al menos una composición que comprende (a) un ácido nucleico que codifica un mimeticuerpo aislado central de la región de bisagra, mimético de la EPO y/o un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO, como se describe en la presente; y (b) un portador o diluyente adecuado. El portador o diluyente puede opcionalmente ser farmacéuticamente aceptable, de acuerdo con los portadores o diluyentes conocidos. La composición puede comprender opcionalmente además, al menos un compuesto, proteína o composición adicional.

La presente invención proporciona además al menos un método o composición de un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO, para administrar una cantidad terapéuticamente efectiva para modular o tratar al menos una condición relacionada con la proteína en una célula, tejido, órgano, animal o paciente y/o, antes, de, posterior a, o durante una condición relacionada, como se conoce en la técnica y/o como se describe en la presente.

La presente invención también proporciona al menos una composición, dispositivo y/o método para suministrar una cantidad terapéutica o profilácticamente efectiva de al menos un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO, de acuerdo con la presente invención.

La presente invención proporciona además al menos un método o composición de un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO, para diagnosticar al menos una condición relacionada con la EPO en una célula, tejido, órgano, animal o paciente y/o, antes de, posterior a, o durante una condición relacionada, como se conoce en la técnica y/o como se describe en la presente.

La presente invención también proporciona al menos una composición, dispositivo y/o método para suministrar el diagnóstico de al menos un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO, de acuerdo con la presente invención.

En un aspecto, la presente invención proporciona al menos un mimeticuerpo humano aislado central de la región de bisagra, mimético de la EPO, que comprende al menos una región P(n), que comprende al menos una porción de al menos una de las SEQ ID NOS: 1-30, por ejemplo, como se presenta en el Cuadro 1 siguiente, u opcionalmente con una o más sustituciones, supresiones o inserciones como se describe en la presente o como se conoce en la técnica. En otro aspecto, la presente invención proporciona al menos un mimeticuerpo humano aislado central de la región de bisagra, mimético de la EPO, en donde el mimeticuerpo central de la región de

bisagra, mimético de la EPO se une específicamente a al menos un epitopo que comprende al menos 1-3 de al menos un ligando o región de unión, ligando el cual se une a al menos una porción de al menos una de las SEQ ID NOS: 1-30 como se presenta en el Cuadro 1 siguiente, u opcionalmente con una o más sustituciones, supresiones o inserciones, como se describe en la presente o como se conoce en la técnica.

El al menos un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO, puede opcionalmente, realizar además al menos uno de: unirse a la proteína con una afinidad de al menos una seleccionada de al menos 10^{-9} M, al menos 10^{-10} M, al menos 10^{-11} M o al menos 10^{-12} M; neutralizar sustancialmente al menos una actividad de al menos una proteína o porción de la misma. También se proporciona un ácido nucleico aislado que codifica al menos un mimeticuerpo humano aislado central de la región de bisagra, mimético de la EPO; un vector de ácido nucleico aislado que comprende el ácido nucleico aislado y/o una célula hospedera procariótica o eucariótica que comprende el ácido nucleico aislado. La célula hospedera puede opcionalmente, ser al menos una seleccionada de células COS-1, COS-7, HEK293, BHK21, CHO, BSC-1, Hep G2, 653, SP2/0, 293, HeLa, de mieloma o de linfoma, o cualquier célula derivada, inmortalizada o transformada de las mismas. También se proporciona un método para producir al menos un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO, que comprende traducir el ácido nucleido que codifica el mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO bajo

condiciones in vitro, in vivo o in situ, de manera que el mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO se expresa en cantidades detectables o recuperables.

También se proporciona una composición que comprende al menos un mimeticuerpo humano aislado central de la región de bisagra, mimético de la EPO y al menos un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable. La composición puede comprender además opcionalmente, una cantidad efectiva de al menos un compuesto o proteína seleccionado de al menos uno de una marca o reportero detectable, un fármaco antiinfeccioso, un fármaco para el sistema cardiovascular (CV), un fármaco para el sistema nervioso central (CNS), un fármaco para el sistema nervioso autónomo (ANS), un fármaco para el tracto respiratorio, un fármaco para el tracto gastrointestinal (GI), un fármaco hormonal, un fármaco para el equilibrio de los fluidos o electrolítico, un fármaco hematológico, un fármaco antineoplásico, un fármaco para la inmunomodulación, un fármaco oftálmico, ótico o nasal, un fármaco tópico, un fármaco nutritivo, un fármaco antagonista del TNF, antirreumático, relajante muscular, narcótico, antiinflamatorio no esteroideo (NTHE), un analgésico, un anestésico, un sedante, un anestésico local, un bloqueador neuromuscular, un antimicrobiano, un antisoriático, un corticosteroide, un esteroide anabólico, una eritropoyetina, una inmunización, una inmunoglobulina, un inmunosupresor, una hormona del crecimiento, un fármaco para el reemplazo hormonal, un radiofarmacéutico, un antidepresivo, un antisicótico, un estimulante, una medicación para el asma, un agonista

beta, un esteroide inhalado, una epinefrina o análogo, una citocina o un antagonista de la citocina.

La presente invención proporciona además un anticuerpo o fragmento antiidiotipo que se une específicamente a al menos un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO de la presente invención.

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

(a) poner en contacto o administrar una composición que comprende una cantidad efectiva de al menos un mimeticuerpo humano aislado central de la región de bisagra, mimético de la EPO de la invención con la célula, tejido, órgano o animal. El método puede comprender además opcionalmente utilizar una cantidad efectiva de 0.001-50 mg/kilogramo de las células, tejido, órgano o animal. El método puede comprender además opcionalmente utilizar el contacto o la administración por al menos un modo seleccionado de parenteral, subcutáneo, intramuscular, intravenoso, intraarticular, intrabronquial, intraabdominal, intracapsular, intracartilaginoso, intracavidad, intracelial, intracelebelar, intracerebroventricular, intracólico, intracervical, intragástrico, intrahepático, intramiocárdico, intraósteo, intrapélvico, intrapericárdico, intraperitoneal, intrapleural, intraprostático, intrapulmonar, intrarrectal, intrarrenal, intrarretinal, intraespinal, intrasinovial, intratorácico, intrauterino, intravesical, bolo, vaginal, rectal, bucal, sublingual,

intranasal o transdérmico. El método puede comprender además opcionalmente administrar antes, de manera concurrente o después de (a) poner en contacto o administrar al menos una composición que comprende una cantidad efectiva de al menos un compuesto o proteína seleccionado de al menos uno de una marca o reportero detectable, un fármaco antiinfeccioso, un fármaco para el sistema cardiovascular (CV), un fármaco para el sistema nervioso central (CNS), un fármaco para el sistema nervioso autónomo (ANS), un fármaco para el tracto respiratorio, un fármaco para el tracto gastrointestinal (GI), un fármaco hormonal, un fármaco para el equilibrio de los fluidos o electrolítico, un fármaco hematológico, un fármaco antineoplásico, un fármaco para la inmunomodulación, un fármaco oftálmico, ótico o nasal, un fármaco tópico, un fármaco nutritivo, un fármaco antagonista del TNF, antirreumático, relajante muscular, narcótico, antiinflamatorio no esteroideo (NSAID), un analgésico, un anestésico, un sedante, un anestésico local, un bloqueador neuromuscular, un antimicrobiano, un antisoriático, un corticosteroide, un esteroide anabólico, una eritropoyetina, una inmunización, una inmunoglobulina, un inmunosupresor, una hormona del crecimiento, un fármaco para el reemplazo hormonal, un radiofarmacéutico, un antidepresivo, un antisicótico, un estimulante, una medicación para el asma, un agonista beta, un esteroide inhalado, una epinefrina o análogo, una citocina o un antagonista de la citocina.

También se proporciona un dispositivo médico, que comprende al menos un mimeticuerpo humano aislado central de la región de bisagra,

mimético de la EPO de la invención, en donde el dispositivo es adecuado para poner en contacto o administrar el al menos un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO mediante al menos un modo seleccionado de parenteral, subcutáneo, intramuscular, intravenoso, intraarticular, intrabronquial, intraabdominal, intracapsular, intracartilaginoso, intracavidad, intracelial, intracelebelar, intracerebroventricular, intracólico, intracervical, intragástrico, intrahepático, intramiocárdico, intraósteo, intrapélvico, intrapericárdico, Intraperitoneal, Intrapleural, intraprostático, intrapulmonar, intrarrectal, intrarrenal, intrarretinal, intraespinal, intrasinovial, intratorácico, intrauterino, intravesical, bolo, vaginal, rectal, bucal, sublingual, intranasal o transdérmico.

También se proporciona un artículo de fabricación para uso farmacéutico o de diagnóstico en humanos, que comprende un material de empaque y un recipiente que comprende una solución o una forma liofilizada de al menos un mimeticuerpo humano aislado central de la región de bisagra, mimético de la EPO de la presente invención. El artículo de fabricación puede comprender opcionalmente tener el recipiente como un componente de un dispositivo o sistema de suministro parenteral, subcutáneo, intramuscular, intravenoso, intraarticular, intrabronquial, intraabdominal, intracapsular, intracartilaginoso, intracavidad, intracelial, intracelebelar, intracerebroventricular, intracólico, intracervical, intragástrico, intrahepático, intramiocárdico, intraósteo, intrapélvico, intrapericárdico, intraperitoneal, intrapleural, intraprostático, intrapulmonar, intrarrectal, intrarrenal, intrarretinal,

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

También se proporciona un método para producir al menos un mimeticuerpo humano aislado central de la región de bisagra, mimético de la EPO de la presente invención, que comprende proporcionar una célula hospedera o un animal transgénico o una planta transgénica o una célula de planta capaz de expresar en cantidades recuperables, el mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO. En la presente invención, se proporciona además al menos un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO producido mediante el método anterior.

La presente invención también proporciona al menos un método para expresar al menos un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO, o un anticuerpo antiidiotipo, en una célula hospedera, que comprende cultivar una célula hospedera como se describe en la presente bajo condiciones en donde al menos un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO se expresa en cantidades detectables y/o recuperables.

La presente invención proporciona además cualquier invención descrita en la presente.

DESCRIPCION DETALLADA DE LA INVENCION

La presente invención proporciona mimeticuerpos o porciones o variantes especificadas recombinantes y/o sintéticas, así como composiciones y moléculas de ácidos nucleicos codificantes que comprenden al menos un polinucleótido que codifica al menos un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO. Tales mimeticuerpos o porciones o variantes especificadas de la presente invención comprenden secuencias específicas de mimeticuerpos centrales de la región de bisagra, miméticos de la EPO, dominios, fragmentos y variantes especificadas de los mismos, y métodos para hacer y utilizar los ácidos nucleicos y los mimeticuerpos o porciones o variantes especificadas, incluyendo composiciones, métodos y dispositivos terapéuticos.

La presente invención también proporciona al menos un mimeticuerpo aislado central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada como se describe en la presente y/o como se conoce en la técnica. El mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO puede comprender opcionalmente al menos una región CH3 enlazada directamente con al menos una región CH2 enlazada directamente con al menos una región de bisagra o fragmento de la misma (H), enlazada directamente con una secuencia enlazante opcional (L), enlazada directamente a al menos un péptido terapéutico (P), enlazada

directamente además opcionalmente con al menos una porción de al menos una secuencia variable de anticuerpo (V).

En una modalidad preferida, un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO comprende la fórmula (I):

((V(m)-P(n)-L(o)-H(p)-CH2(q)-CH3(r))(s),

en donde V es al menos una porción de un término N de una región variable de inmunoglobulina, P es al menos un péptido bioactivo, L es un polipéptido que proporciona flexibilidad estructural, permitiendo que el mimeticuerpo tenga orientaciones y propiedades de unión alternas, H es al menos una porción de una región de bisagra variable de inmunoglobulina, CH2 es al menos una porción de una región constante CH2 de inmunoglobulina, CH3 es al menos una porción de una región constante CH3 de inmunoglobulina, m, n, o, p, q, r y s pueden ser de manera independiente un entero entre 0, 1 ó 2 y 10, que imitan diferentes tipos de moléculas de inmunoglobulina, por ejemplo, de manera no exclusiva, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA, IgM, IgD, IgE y lo similar, o combinaciones de las mismas. El monómero en donde m = 1, puede enlazarse a otros monómeros mediante asociación o enlace covalente, tal como, de manera no exclusiva, un enlace disulfuro Cys-Cys u otra secuencia de Inmunoglobulina. El mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO de la presente invención imita una estructura de anticuerpo con sus propiedades y funciones inherentes, mientras que proporciona un péptido terapéutico y sus

propiedades o actividades inherentes o adquiridas in vitro, in vivo o in situ. Las varias porciones del anticuerpo y las porciones peptídicas terapéuticas de al menos un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO de la presente invención, puede variar como se describe en la presente en combinación con lo que se conoce en la técnica.

Como se utiliza en la presente, un "mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO", "una porción de mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO", o "fragmento de mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO" y/o "variante del mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO" y lo similar, imita, tiene o simula al menos una unión ligando o al menos una actividad biológica de al menos una proteína, tal como la unión o actividad del ligando in vitro, in situ y/o de manera preferida in vivo, tal como, de manera no exclusiva, al menos una de las SEQ ID NOS: 1-30. Por ejemplo, un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO adecuado, una porción o variante especificada de la presente invención, puede unirse a al menos un ligando de proteína e incluye al menos un ligando de proteína, un receptor, receptor soluble y lo similar. Un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO adecuado, porción o variante especificada también puede modular, incrementar, modificar, activar al menos un receptor de la proteína o señalización u otra actividad mensurable o detectable.

Los mimeticuerpos útiles en los métodos y composiciones de la presente invención, están caracterizados por una afinidad de unión adecuada

a los ligandos o receptores de la proteína y opcionalmente y de manera preferida tienen baja toxicidad. En particular, un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO, en donde los componentes individuales, tales como la porción de la región variable, la región constante (sin una porción CH1) y el armazón, o cualquier porción de los mismos (por ejemplo, una porción de las regiones J, D o V de la cadena variable pesada o ligera; al menos una porción de al menos una región de bisagra, la cadena de cadena pesada o ligera constante y lo similar), de manera individual y/o colectiva, de manera opcional y preferida posee baja inmunogenicidad, es útil en la presente invención. Los mimeticuerpos que pueden utilizarse en la invención, están caracterizados opcionalmente por su capacidad para tratar a pacientes durante periodos extensos con un alivio de los síntomas de bueno a excelente y baja toxicidad. La baja inmunogenicidad y/o la alta afinidad, así como otras propiedades no definidas, puede contribuir a los resultados terapéuticos logrados. "Baja inmunogenicidad" se define en la presente como elevar las respuestas HAMA, HACA o HAHA significativas en menos que aproximadamente 75%, o de manera preferida en menos que aproximadamente 50, 45, 40, 35, 30, 35, 20, 15, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 y/o 1% de los pacientes tratados y/o elevar los títulos bajos en el paciente tratado (menos que aproximadamente 300, de manera preferida menos que aproximadamente 100, medido con un inmunoensayo de enzima con antígeno doble) (véase, por ejemplo, Elliott et al., *Lancet* 344:1125-1127 (1994)).

Utilidad

Los ácidos nucleicos aislados de la presente invención pueden utilizarse para la producción de al menos un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO, fragmento o variante especificada del mismo, que puede utilizarse para efectuar en una célula, tejido, órgano o animal (incluyendo mamíferos y humanos), para modular, tratar, alivia, ayudar a prevenir la incidencia de o reducir los síntomas de, al menos una condición relacionada con una proteína, seleccionada, de manera no exclusiva, de al menos una de un trastorno o enfermedad inmune, trastorno o enfermedad cardiovascular, un trastorno o enfermedad infeccioso, maligno y/o neurológico, una anemia; una condición inmune/autoinmune; y/o cancerígena/infecciosa, así como otras condiciones relacionadas con la proteína conocidas o especificadas.

Tal método puede comprender administrar una cantidad efectiva de una composición o una composición farmacéutica que comprende al menos un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada a una célula, tejido, órgano, animal o paciente en necesidad de tal modulación, tratamiento, alivio, prevención o reducción en los síntomas, efectos o mecanismos. La cantidad efectiva puede comprender una cantidad de aproximadamente 0.0001 a 500 mg/kg por administración única o múltiple, o para lograr una concentración en suero de 0.0001-5000 µg/ml de concentración en suero por administración única o múltiple, o cualquier intervalo o valor efectivo en el mismo, como se hace y

determina utilizando métodos conocidos, como se describe en la presente o se conoce en las técnicas relevantes.

Citas

Todas las publicaciones y patentes citadas en la presente están incorporadas completamente en la presente como referencia, puesto que muestran el estado de la técnica al momento de la presente invención y/o proporcionan una descripción y habilitación de la presente invención. Las publicaciones se refieren a cualquier publicación científica o de patente, o cualquier otra información disponible en cualquier formado de medios, incluyendo todos los formatos registrados, electrónicos o impresos. Las siguientes referencias se incorporan en su totalidad en la presente como referencia: Ausubel, et al., ed., Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, Inc., NY, NY (1987-2003); Sambrook, et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2a Edición, Cold Spring Harbor, NY (1989); Harlow and Lane, Antibodies, a Laboratory Manual, Cold Spring Harbor, NY (1989); Colligan, et al., eds., Current Protocols in Immunology, John Wiley & Sons, Inc., NY (1994-2003); Colligan et al., Current Protocols in Protein Science, John Wiley & Sons, NY, NY, (1997-2003).

Mimeticuerpos de la presente invención

El mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO puede comprender opcionalmente al menos una región CH3 enlazada

directamente con al menos una región CH2 enlazada directamente con al menos una porción de al menos un fragmento de la región de bisagra (H), de manera que comprende al menos una región de bisagra central, enlazada directamente con una secuencia enlazante opcional (L), enlazada directamente a al menos un péptido terapéutico (P), enlazada opcionalmente además, directamente con al menos una porción de al menos una secuencia de anticuerpo variable (V). En una modalidad preferida, un par de CH3-CH2-H-L-V, el par enlazado por asociación o el enlace covalente. Así, un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO de la presente invención imita una estructura de anticuerpo con sus propiedades y funciones inherentes, mientras que proporciona un péptido terapéutico y sus propiedades o actividades inherentes o adquiridas in vitro, in vivo o in situ. Las varias porciones del anticuerpo y las porciones peptídicas terapéuticas de al menos un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO de la presente invención, pueden variar como se describe en la presente en combinación con lo que se conoce en la técnica.

Los mimeticuerpos de la presente invención proporcionan así al menos una propiedad adecuada en comparación con las proteínas conocidas, tales como, de manera no exclusiva, al menos una de vida media incrementada, actividad incrementada, actividad más específica, fuerza incrementada, una velocidad de inactivación incrementada o disminuida, una actividad seleccionada o un subconjunto más adecuado de actividades,

menos inmunogenicidad, calidad o duración incrementada de al menos un efecto terapéutico deseado, menos efectos laterales y lo similar.

Los fragmentos de los mimeticuerpos de acuerdo con la Fórmula (I), pueden producirse mediante escisión enzimática, técnicas sintéticas o recombinantes, como se conoce en la técnica y/o como se describe en la presente. Los mimeticuerpos también pueden producirse en una variedad de formas truncas utilizando genes de anticuerpo en los cuales uno o más codones de paro se han introducido corriente arriba del sitio de paro natural. Las varias porciones de los mimeticuerpos pueden unirse químicamente mediante técnicas convencionales, o pueden prepararse como una proteína contigua utilizando técnicas de ingeniería genética. Por ejemplo, un ácido nucleico que codifica al menos una de las regiones constantes de una cadena de anticuerpo humano, puede expresarse para producir una cadena contigua para utilizarse en los mimeticuerpos de la presente invención. Véase, por ejemplo, Ladner et al., Patente de E.U.A. No. 4,946,778 y Bird, R. E. et al., *Science*, 242:423-426 (1988), con respecto a los anticuerpos de una sola cadena.

Como se utiliza en la presente, el término "mimeticuerpo humano", se refiere a un anticuerpo en el cual se espera que sustancialmente cada parte de la proteína (por ejemplo, péptido mimético de la EPO, armazón, dominios CL, CH (por ejemplo, CH2, CH3), bisagra (VL, VH)), sea sustancialmente no inmunogénica en humanos, con sólo cambios o variaciones menores en la secuencia. Tales cambios o variaciones

opcionalmente, y de manera preferida, retienen o reducen la inmunogenicidad en humanos con relación a los anticuerpos humanos no modificados, o mimeticuerpos de la presente invención. Así, un anticuerpo humano y el mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO correspondiente de la presente invención, es distinto de un anticuerpo quimérico o humanizado. Se indica que un anticuerpo humano y un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO puede producirse por un animal o célula no humana que es capaz de expresar los genes de las inmunoglobulinas humanas (por ejemplo, cadena pesada y/o cadena ligera).

Los mimeticuerpos humanos que son específicos para al menos un ligando o receptor de proteína de los mismos, pueden diseñarse contra un ligando apropiado, tal como un receptor o ligando aislado de la proteína y/o de la EPO o una porción del mismo (incluyendo moléculas sintéticas, tales como péptidos sintéticos). La preparación de tales mimeticuerpos se realiza utilizando técnicas conocidas para identificar y caracterizar las regiones o secuencias de unión al ligando de al menos una proteína o porción de los mismos.

En una modalidad preferida, al menos un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada de la presente invención, se produce por al menos una línea celular, una línea celular mezclada, una célula inmortalizada o una población clonal de células inmortalizadas y/o cultivadas. Las células inmortalizadas

que producen una proteína, pueden producirse utilizando métodos adecuados. De manera preferida, el al menos un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada, se genera proporcionando ácidos nucleicos o vectores que comprenden ADN derivado que tiene una secuencia sustancialmente similar a al menos un sitio de inmunoglobulina humana que está rearreglado funcionalmente, o que puede someterse a un rearreglo funcional, y que comprende además una estructura de mimeticuerpo como se describe en la presente, por ejemplo, de manera no exclusiva, la Fórmula (I), en donde las porciones de las regiones variables C y N terminales pueden utilizarse para V, las regiones de bisagra para H, CH2 para CH2 y CH3 para CH3, como se conoce en la técnica.

El término "rearreglado funcionalmente", como se utiliza en la presente, se refiere a un segmento de un ácido nucleico de un sitio de inmunoglobulina que se ha sometido a recombinación V(D)J, produciendo por lo tanto un gen de inmunoglobulina que codifica una cadena de inmunoglobulina (por ejemplo, cadena pesada), o cualquier porción de la misma. Un gen de inmunoglobulina rearreglada funcionalmente puede identificarse de manera directa o indirecta utilizando métodos adecuados, tales como, por ejemplo, secuenciamiento nucleotídico, hibridación (por ejemplo, Southern blotting, Northern blotting), utilizando sondas que pueden recocerse a las uniones codificantes entre los segmentos del gen o amplificación enzimática de los genes de inmunoglobulina (por ejemplo, reacción en cadena de la polimerasa) con cebadores que pueden recocerse a

las uniones codificantes entre los segmentos del gen. Si una célula produce un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante que comprende una región variable particular o una región variable que comprende una secuencia particular (por ejemplo, al menos una secuencia P), también puede determinarse utilizando métodos adecuados.

Los mimeticuerpos, porciones y variantes especificadas de la presente invención, también pueden prepararse utilizando al menos un ácido nucleico que codifica un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada, para proporcionar animales o mamíferos transgénicos, tales como cabras, vacas, caballos, ovejas y lo similar, que producen tales mimeticuerpos o porciones o variantes especificadas en su leche. Tales animales pueden proporcionarse utilizando métodos conocidos como se aplican para las secuencias que codifican el anticuerpo. Véase, por ejemplo, de manera no exclusiva, las Patentes de E.U.A. Nos. 5,827,690; 5,849,992; 4,873,316; 5,849,992; 5,994,616; 5,565,362; 5,304,489, y lo similar, cada una de las cuales se incorpora totalmente en la presente como referencia.

Los mimeticuerpos, porciones y variantes especificadas de la presente invención, pueden prepararse además utilizando al menos un ácido nucleico que codifica un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada, para proporcionar plantas transgénicas y células de plantas cultivadas (por ejemplo, de manera no exclusiva, tabaco y maíz) que producen tales mimeticuerpos, porciones o

variantes especificadas en las partes de la planta o en las células cultivadas de las mismas. Como un ejemplo no limitante, las hojas de tabaco transgénico que expresan las proteínas recombinantes se han utilizado exitosamente para proporcionar grandes cantidades de proteínas recombinantes, por ejemplo, utilizando un promotor inducible. Véase, por ejemplo, Cramer et al., Curr. Top. Microbol. Immunol. 240:95-118 (1999) y las referencias citadas en la misma. También, se ha utilizado el maíz transgénico para expresar proteínas de mamífero a niveles de producción comercial, con actividades biológicas equivalentes a aquéllas producidas en otros sistemas recombinantes o purificadas de fuentes naturales. Véase, por ejemplo, Hood et al., Adv. Exp. Med. Biol. 464:127-147 (1999) y las referencias citadas en la misma. También se han producido anticuerpos en grandes cantidades a partir de semillas de plantas transgénicas, incluyendo fragmentos de anticuerpo, tales como mimeticuerpos de cadena sencilla (scFv), incluyendo semillas de tabaco y tubérculos de papa. Véase, por ejemplo, Conrad et al., Plant Mol. Biol. 38:101-109 (1998) y las referencias citadas en la misma. Así, los mimeticuerpos, porciones y variantes especificadas de la presente invención, también pueden producirse utilizando plantas transgénicas, de acuerdo con métodos conocidos. Véase también, por ejemplo, Fischer et al., Biotechnol. Appl. Biochem. 30:99-108 (Octubre, 1999), Ma et al., Trends Biotechnol. 13:522-7 (1995); Ma et al., Plant Physio. 109:341-6 (1995); Whitelam et al., Biochem. Soc. Trans. 22:940-944 (1994); y las referencias citadas en las

mismas. Las referencias anteriores se incorporan en su totalidad en la presente como referencia.

Los mimeticuerpos de la invención pueden unir ligandos de proteína humana con una amplia variedad de afinidades (K_D). En una modalidad preferida, al menos un mimeticuerpo humano central de la región de bisagra, mimético de la EPO de la presente invención puede unirse opcionalmente a al menos un ligando de proteína con alta afinidad. Por ejemplo, al menos un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO de la presente invención puede unirse a al menos un ligando de proteína con una K_D igual o menor que aproximadamente 10^{-7} M o, de manera más preferida, con una K_D igual a o menor que aproximadamente 0.1-9.9 (o cualquier intervalo o valor en el mismo) X 10^{-7}, 10^{-8}, 10^{-9}, 10^{-10}, 10^{-11}, 10^{-12} ó 10^{-13} M, o cualquier intervalo o valor en el mismo.

La afinidad o fuerza de un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO para al menos un ligando de proteína, puede determinarse experimentalmente utilizando cualquier método adecuado, por ejemplo, como se utiliza para determinar la afinidad o fuerza de unión del anticuerpo-antígeno. (Véase, por ejemplo, Berzofsky, et al., "Antibody-Antigen Interactions", *In Fundamental Immunology*, Paul, W. E., Ed., Raven Press: New York, NY (1984); Kuby, Janis Immunology, W. H. Freeman and Company: New York, NY (1992); y métodos descritos en las mismas). La afinidad medida de una interacción particular mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO-ligando, puede variar si se mide bajo

diferentes condiciones (por ejemplo, concentración de la sal, pH). Así, las mediciones de la afinidad y otros parámetros de unión al ligando (por ejemplo, K_D, K_a, K_d), se hacen de manera preferida con soluciones estandarizadas del mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO y el ligando, y un amortiguador estandarizado, tal como el amortiguador descrito en la presente.

Moléculas de ácido nucleico

Utilizando la información proporcionada en la presente, tal como las secuencias nucleotídicas que codifican al menos 90-100% de los aminoácidos contiguos de al menos una de las SEQ ID NOS: 1-30, así como al menos una porción de un anticuerpo, en donde las secuencias anteriores se insertan como la secuencia P de Fórmula (I) para proporcionar un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO de la presente invención, que comprende además fragmentos, variantes especificadas o secuencias de consenso del mismo, o un vector depositado que comprende al menos una de estas secuencias, una molécula de ácido nucleico de la presente invención que codifica al menos un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada, puede obtenerse utilizando los métodos descritos en la presente o como se conocen en la técnica.

Las moléculas de ácido nucleico de la presente invención pueden estar en la forma de ARN, tal como ARNm, ARNhn, ARNt o cualquier

otra forma, o en la forma de ADN, incluyendo, de manera no exclusiva, ADNc y ADN genómico obtenido mediante la clonación o producido sintéticamente, o cualquier combinación de los mismos. El ADN puede ser de triple hebra, de doble hebra o de una sola hebra, o cualquier combinación de los mismos. Una porción de al menos una hebra del ADN o el ARN puede ser una hebra codificante, también conocida como la hebra sentido o puede ser la hebra no codificante, también referida como la hebra antisentido.

Las moléculas aisladas de ácido nucleico de la presente invención pueden incluir moléculas de ácido nucleico que comprenden un marco abierto de lectura (ORF), opcionalmente con uno o más intrones, moléculas de ácido nucleico que comprenden la secuencia codificante para un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada; y moléculas de ácido nucleico que comprenden una secuencia nucleotídica sustancialmente diferente de aquéllas descritas anteriormente, pero las cuales, debido a la degeneración del código genético, todavía codifican al menos un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO como se describe en la presente y/o como se conoce en la técnica. Por supuesto, el código genético es bien conocido en la técnica. Así, sería rutinario para alguien con experiencia en la técnica generar tales variantes degeneradas de ácidos nucleicos que codifican el mimeticuerpo específico central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada de la presente invención. Véase,

por ejemplo, Ausubel, et al., supra, y tales variantes de ácido nucleico están incluidas en la presente invención.

Como se indica en la presente, las moléculas de ácido nucleico de la presente invención que comprenden un ácido nucleico que codifica un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada pueden incluir, de manera no exclusiva, aquéllos que codifican la secuencia de aminoácidos de un fragmento de mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO, por sí mismo; la secuencia codificante para todo el mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción del mismo; la secuencia codificante para un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO, fragmento o porción, así como secuencias adicionales, tales como la secuencia codificante de al menos un péptido líder de la señal o de fusión, con o sin las secuencias codificantes adicionales mencionadas anteriormente, tales como un intrón, junto con secuencias no codificantes adicionales, incluyendo, de manera no exclusiva, las secuencias 5' y 3' no codificantes, tales como las secuencias transcritas, no traducidas que juegan un papel en la transcripción, el procesamiento del ARNm, incluyendo el empalme y las señales de poliadenilación (por ejemplo, unión al ribosoma y estabilidad del ARNm); y secuencias codificantes adicionales que codifican aminoácidos adicionales, tales como aquéllos que proporcionan funcionalidades adicionales. Así, la secuencia que codifica un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada,

puede fusionarse a una secuencia marcadora, tal como una secuencia que codifica un péptido que facilita la purificación del mimeticuerpo fusionado central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada, que comprende un fragmento o porción de mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO.

Polinucleótidos que se hibridan selectivamente a un polinucleótido como se describe en la presente

La presente invención proporciona ácidos nucleicos aislados que se hibridan bajo condiciones de hibridación selectivas a un polinucleótido descrito en la presente, u otros descritos en la presente, incluyendo variantes o porciones especificadas de los mismos. Así, los polinucleótidos de esta modalidad, pueden utilizarse para aislar, detectar y/o cuantificar los ácidos nucleicos que comprenden tales polinucleótidos.

Las condiciones de hibridación de rigor bajo o moderado, se emplean típicamente, pero no exclusivamente, con las secuencias que tienen una identidad de la secuencia reducida con relación a las secuencias complementarias. Las condiciones de rigor moderado y alto pueden emplearse opcionalmente para secuencias de mayor identidad. Las condiciones de rigor bajo permiten la hibridación selectiva de las secuencias que tienen aproximadamente un 40-99% de identidad de la secuencia y pueden emplearse para identificar secuencias ortólogas o parálogas.

Opcionalmente, los polinucleótidos de esta invención codificarán al menos una porción de un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada codificada por los polinucleótidos descritos en la presente. Los polinucleótidos de esta invención abarcan las secuencias de ácidos nucleicos que pueden emplearse para la hibridación selectiva a un polinucleótido que codifica un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada de la presente invención. Véase, por ejemplo, Ausubel, supra; Colligan, supra, cada una incorporada completamente en la presente como referencia.

Construcción de los ácidos nucleicos

Los ácidos nucleicos aislados de la presente invención pueden hacerse utilizando (a) métodos recombinantes, (b) técnicas sintéticas, (c) técnicas de purificación o combinaciones de las mismas, como es bien conocido en la técnica.

Los ácidos nucleicos pueden comprender, de manera conveniente, secuencias además de un polinucleótido de la presente invención. Por ejemplo, un sitio de clonación múltiple que comprende uno o más sitios de restricción de la endonucleasa puede insertarse en el ácido nucleico para ayudar al aislamiento del polinucleótido. También, las secuencias traducibles pueden insertarse para ayudar en el aislamiento del polinucleótido traducido de la presente invención. Por ejemplo, una secuencia

marcadora con hexahistidina, proporciona un medio conveniente para purificar las proteínas de la presente invención. El ácido nucleico de la presente invención, excluyendo la secuencia codificantes, es opcionalmente un vector, adaptador o un enlazante para clonar y/o para la expresión de un polinucleótido de la presente invención.

Las secuencias adicionales pueden agregarse a tales secuencias de clonación y/o expresión para optimizar su función en la clonación y/o expresión, para ayudar en el aislamiento del polinucleótido o para mejorar la introducción del polinucleótido en una célula. El uso de vectores de clonación, vectores de expresión, adaptadores y enlazantes en bien conocido en la técnica. Véase, por ejemplo, Ausubel, supra; o Sambrook, supra.

Métodos recombinantes para construir ácidos nucleicos

Las composiciones de ácidos nucleicos aislados de esta invención, tales como ARN, ADNc, ADN genómico o cualquier combinación de los mismos, pueden obtenerse de fuentes biológicas utilizando cualquiera de varias metodologías de clonación conocidas por aquellos con experiencia en la técnica. En algunas modalidades, las sondas oligonucleotídicas que se hibridan selectivamente, bajo condiciones de rigor adecuado a los polinucleótidos de la presente invención, se utilizan para identificar la secuencia deseada en una biblioteca de ADNc o ADN genómico. El aislamiento del ARN y la construcción de las bibliotecas del ADNc y

genómicas, es bien conocido por aquellos con experiencia ordinaria en la técnica. (Véase, por ejemplo, Ausubel, supra; o Sambrook, supra).

Métodos sintéticos para construir ácidos nucleicos

Los ácidos nucleicos aislados de la presente invención también pueden prepararse mediante síntesis química directa mediante métodos conocidos (véase, por ejemplo, Ausubel, et al., supra). La síntesis química produce generalmente un oligonucleótido de una sola hebra, el cual puede convertirse en ADN de doble hebra mediante la hibridación con una secuencia complementaria, mediante la polimerización con una ADN polimerasa utilizando la hebra única como una plantilla. Alguien con experiencia en la técnica reconocerá que aunque la síntesis química del ADN puede limitarse a las secuencias de aproximadamente 100 o más bases, pueden obtenerse secuencias más largas mediante el ligado de secuencias más cortas.

Casetes de expresión recombinantes

La presente invención proporciona además casetes de expresión recombinantes que comprenden un ácido nucleico de la presente invención. Una secuencia de ácido nucleico de la presente invención, por ejemplo, una secuencia de ADNc o genómica, que codifica un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada de la presente invención, puede utilizarse para construir un casete de expresión recombinante que puede introducirse en al menos una célula

hospedera deseada. Un casete de expresión recombinante comprenderá típicamente un polinucleótido de la presente invención enlazado de manera operable a secuencias regulatorias del inicio de la transcripción que dirigirán la transcripción del polinucleótido en la célula hospedera pretendida. Pueden emplearse promotores heterólogos y no heterólogos (es decir, endógenos), para dirigir la expresión de los ácidos nucleicos de la presente invención.

En algunas modalidades, los ácidos nucleicos aislados que sirven como promotor, mejorador u otros elementos, pueden introducirse en la posición apropiada (corriente arriba, corriente abajo o en un intrón) de una forma no heteróloga de un polinucleótido de la presente invención, para sobrerregular o desrregular la expresión de un polinucleótido de la presente invención. Por ejemplo, los promotores endógenos pueden alterarse in vivo o in vitro mediante mutación, supresión y/o sustitución, como se conoce en la técnica. Un polinucleótido de la presente invención puede expresarse en cualquier orientación sentido o antisentido como se desee. Se apreciará que el control de la expresión del gen en la orientación sentido o antisentido puede tener un impacto directo en las características observables. Otro método de supresión es la supresión sentido. La introducción de un ácido nucleico configurado en la orientación sentido, no ha mostrado ser un medio efectivo para mediante el cual, bloquear la transcripción de los genes objetivo.

Vectores y células hospederas

La presente invención también se relaciona con vectores que incluyen moléculas aisladas de ácido nucleico de la presente invención, células hospederas que son diseñadas genéticamente con vectores recombinantes, y la producción de al menos un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada mediante técnicas recombinantes, como es bien conocido en la técnica. Véase, por ejemplo, Sambrook, et al., supra; Ausubel, et al., supra, cada una incorporada completamente en la presente como referencia.

Los polinucleótidos pueden opcionalmente estar unidos a un vector que contiene un marcador seleccionable para la propagación en un hospedero. Generalmente, un vector plasmídico se introduce en la célula utilizando métodos conocidos adecuados, tales como electroporación y lo similar, otros métodos conocidos incluyen el uso del vector como un precipitado, tal como un precipitado de fosfato de calcio, o en un complejo con un lípido cargado. Si el vector es un virus, puede empacarse in vitro utilizando una línea celular de empaque apropiada y a continuación transducirse en las células hospederas.

El inserto de ADN debe estar enlazado de manera operativa a un promotor apropiado. Los constructos de expresión contendrán además sitios opcionalmente para al menos uno del inicio de la transcripción, terminación y en la región transcrita, un sitio de unión al ribosoma para la traducción. La porción codificante de los transcriptos maduros expresados por los

constructos, incluirá de manera preferida una traducción que se inicia al comienzo y un Colón de terminación (por ejemplo, UAA, UGA o UAG) colocado de manera apropiada al final del ARNm a ser traducido, con UAA y UAG preferidos para la expresión de células de mamífero o eucarióticas.

Los vectores de expresión, de manera preferida, pero opcionalmente, incluirán al menos un marcador seleccionable. Tales marcadores incluyen, por ejemplo, de manera no exclusiva, resistencia al metotrexato (MTX), dihidrofolato reductasa (DHFR, Patentes de E.U.A. Nos. 4,399,216; 4,634,665; 4,656,134; 4,956,288; 5,149,636; 5,179,017, ampicilina, neomicina (G418), ácido micofenólico o glutamina sintetasa (GS, Patentes de E.U.A. Nos. 5,122,464; 5,770,359; 5,827,739), para el cultivo de células eucarióticas y genes para la resistencia a la tetraciclina o ampicilina para cultivos en *E. coli* y otras bacterias o procarióticos (las patentes anteriores se incorporan totalmente en la presente como referencia). Los medios de cultivo y las condiciones apropiadas para las células hospederas descritas anteriormente, son bien conocidos en la técnica. Los vectores adecuados serán fácilmente evidentes para el experto. La introducción de un constructo de un vector en una célula hospedera puede efectuarse mediante transfección con fosfato de calcio, transfección mediada por DEAE-dextrano, transfección mediada por un lípido catiónico, electroporación, transducción, infección u otros métodos conocidos. Tales métodos se describen en la técnica, tales como Sambrook, supra, Capítulos 1-4 y 16-18; Ausubel, supra, Capítulos 1, 9, 13, 15, 16.

Al menos un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada de la presente invención, puede expresarse en una forma modificada, tal como una proteína de fusión, y puede incluir no sólo señales de secreción, sino también regiones funcionales heterólogas adicionales. Por ejemplo, una región de aminoácidos adicionales, particularmente aminoácidos cargados, puede agregarse al término N de un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada, para mejorar la estabilidad y persistencia en la célula hospedera, durante la purificación o durante el manejo y almacenamiento posteriores. También, pueden agregarse porciones peptídicas a un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada de la presente invención para facilitar la purificación. Tales regiones pueden eliminarse antes de la preparación final de un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o al menos un fragmento del mismo. Tales métodos se describen en muchos manuales estándar de laboratorio, tales como Sambrook, supra, Capítulos 17.29-17.42 y 18.1-18.74; Ausubel, supra, Capítulos 16, 17 y 18.

Aquellos con experiencia ordinaria en la técnica tienen conocimiento de numerosos sistemas de expresión disponibles para la expresión de un ácido nucleico que codifica una proteína de la presente invención.

Los cultivos celulares ilustrativos útiles para la producción de los mimeticuerpos, porciones o variantes especificadas de los mismos, son las

células de mamífero. Los sistemas de células de mamífero con frecuencia están en la forma de monocapas de células, aunque también pueden utilizarse suspensiones o birreactores de células de mamífero. Varias líneas celulares hospederas adecuadas capaces de expresar proteínas glucosiladas intactas se han desarrollado en la técnica, e incluyen las líneas celulares COS-1 (por ejemplo, ATCC CRL 1650), COS-7 (por ejemplo, ATCC CRL-1651), HEK293, BHK21 (por ejemplo, ATCC CRL-10), CHO (por ejemplo, ATCC CRL 1610, DG-44) y BSC-1 (por ejemplo, ATCC CRL-26), células hepG2, células P3X63Ag8.653, SP2/0-Ag14, 293, células HeLa y lo similar, las cuales están disponibles fácilmente de, por ejemplo, la colección Americana de Cultivos Tipo, Manassas, Va. Las células hospederas preferidas incluyen células de origen linfoide, tales como células de mieloma y linfoma. Las células hospederas particularmente preferidas son las células P3X63Ag8.653 (Número de Acceso de ATCC CRL-1580) y las células SP2/0-Ag14 (Número de Acceso de ATCC CRL-1851).

Los vectores de expresión para estas células pueden incluir una o más de las siguientes secuencias de control de la expresión, tales como, de manera no exclusiva, un origen de replicación; un promotor (por ejemplo, promotores tardíos o tempranos SV40, el promotor CMV (por ejemplo, las Patentes de E.U.A. Nos. 5,168,062; 5,385,839), un promotor tk HSV, un promotor pgk (fosfoglicerato cinasa), un promotor EF-1 alfa (por ejemplo, Patente de E.U.A. No. 5,266,491), al menos un promotor de inmunoglobulina humana; un mejorador y/o sitios de información del procesamiento, tales como

sitios de unión del ribosoma, sitios de empalme del ARN, sitios de poliadenilación (por ejemplo, un sitio de adición poli A T Ag grande de SV40), y secuencias de terminación de la transcripción. Véase, por ejemplo, Ausubel et al., supra; Sambrook, et al., supra. Otras células útiles para la producción de los ácidos nucleicos o proteínas de la presente invención son conocidas y/o están disponibles, por ejemplo, del Catálogo de Líneas Celulares e Hibridomas de la Colección Americana de Cultivos Tipo (www.atcc.org) u otras fuentes conocidas o comerciales.

Cuando se emplean células hospederas eucarióticas, las secuencias de la terminación de la poliadenilación o la transcripción se incorporan típicamente en el vector. Un ejemplo de una secuencia terminadora es la secuencia de poliadenilación del gen de la hormona del crecimiento bovino. Las secuencias para el empalme exacto del trascripto también pueden incluirse. Un ejemplo de una secuencia de empalme es el intrón VP1 de SV40 (Sprague, et al., J. Virol. 45:773-781 (1983)). Adicionalmente, pueden incorporarse en el vector las secuencias del gen para controlar la replicación en la célula hospedera, como se conoce en la técnica.

Purificación de un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada del mismo

Un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada, puede recuperarse y purificarse a partir de cultivos celulares recombinantes mediante métodos bien conocidos,

incluyendo, de manera no exclusiva, purificación de la proteína A, precipitación con sulfato de amonio o etanol, extracción con ácido, cromatografía de intercambio de aniones o cationes, cromatografía con fosfocelulosa, cromatografía con interacción hidrofóbica, cromatografía por afinidad, cromatografía con hidroxilapatita y cromatografía con lectina. También puede emplearse para la purificación la cromatografía líquida de alto rendimiento ("HPLC"). Véase, por ejemplo, Colligan, Current Protocols in Immunology, o Current Protocols in Protein Science, John Wiley & Sons, NY, NY, (1997-2003), por ejemplo, Capítulos 1, 4, 6, 8, 9, 10, cada uno incorporado completamente en la presente como referencia.

Los mimeticuerpos o las porciones o variantes especificadas de la presente invención, incluyen productos purificados naturalmente, productos de procedimientos químicos sintéticos y productos producidos mediante técnicas recombinantes a partir de un hospedero eucariótico, incluyendo, por ejemplo, células de levadura, de plantas superiores, de insecto y de mamíferos. Dependiendo del hospedero empleado en un procedimiento de producción recombinante, el mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada de la presente invención, puede estar glucosilado o no glucosilado, con el glucosilado siendo el preferido. Tales métodos se describen en muchos manuales estándar de laboratorio, tales como Sambrook, supra, Secciones 17.37-17.42; Ausubel, supra, Capítulos 10, 12, 13, 16, 18 y 20, Colligan, Protein Science, supra,

Capítulos 12-14, todas incorporadas totalmente en la presente como referencia.

Mimeticuerpos, fragmentos y/o variantes especificadas

Los mimeticuerpos aislados de la presente invención comprenden un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada codificado por cualquiera de los polinucleótidos de la presente invención, como se discute con más detalle en la presente, o cualquier mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO aislado o preparado o una porción o variante especificada del mismo.

De manera preferida, el mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o la porción o variante que se une al ligando, se una a al menos un ligando o receptor de la proteína de la EPO y, por lo tanto, proporciona al menos una actividad biológica de la EPO de la proteína correspondiente o un fragmento de la misma. Diferentes proteínas terapéutica o diagnósticamente significativas, son bien conocidas en la técnica y los ensayos adecuados o las actividades biológicas de tales proteínas son bien conocidos en la técnica.

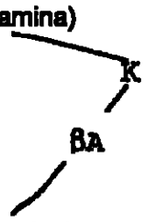
Los ejemplos no limitantes de los péptidos miméticos de la EPO adecuados para esta invención, aparecen en el Cuadro 1 siguiente. Estos péptidos pueden prepararse mediante los métodos descritos y/o conocidos en la técnica. Las abreviaturas de aminoácido de una sola letra se utilizan en la

mayoría de los casos. La X en estas secuencias (y a través de esta especificación, a menos que se especifique de otra manera en un caso particular), significa que cualquiera de los 20 residuos de aminoácidos naturales o conocidos o derivados conocidos de los mismos pueden estar presentes, o cualquier aminoácido modificado conocido de los mismos. Cualquiera de estos péptidos puede estar enlazado en serie (es decir, secuencialmente), con o sin enlazantes, y unos pocos ejemplos enlazados en serie se proporcionan en el Cuadro. Los enlazantes se listan como "Δ", y pueden ser cualquiera de los enlazantes descritos en la presente. Las repeticiones en serie y los enlazantes se muestran de manera separada mediante líneas punteadas por claridad. Cualquier péptido que contenga un residuo de cisteinilo puede estar opcionalmente reticulado con otro péptido que contenga Cys, cualquiera o ambos de los cuales pueden estar enlazados a un vehículo. Unos pocos ejemplos reticulados se proporcionan en el Cuadro. Cualquier péptido que tenga más de un residuo Cys puede formar un enlace disulfuro intrapéptido, también; véase, por ejemplo, los péptidos miméticos de la EPO en el Cuadro 1. Unos pocos ejemplos de péptidos con enlace disulfuro intrapéptido se especifican en el Cuadro. Cualquiera de estos péptidos puede derivarse como se describe en la presente, y unos pocos ejemplos derivados se proporcionan en el Cuadro. Para los derivados en los cuales el término carboxilo puede estar coronado con un grupo amino, el grupo amino de coronación se muestra como $-NH_2$. Para los derivados en los cuales los residuos de aminoácidos están sustituidos por porciones diferentes

a residuos de aminoácido, las sustituciones se denotan mediante una δ, que significa cualquiera de las porciones conocidas en la técnica, por ejemplo, como se describe en Bhatnagar et al. (1996), J. Med. Chem. 39:3814-9 y Cuthbertson et al. (1997), J. Med. Chem. 40:2876-82, las cuales se incorporan totalmente como referencia. El sustituyente J y los sustituyentes Z (Z_5, Z_6, ... Z_{40}), se definen en las Patentes de E.U.A. Nos. 5,608,035, 5,786,331 y 5,880,096, las cuales se incorporan totalmente en la presente como referencia. Para las secuencias miméticas de la EPO (Cuadro 1), los sustituyentes X_2 hasta X_{11} y el entero "n", son como se definió en la WO 96/40772, la cual se incorpora totalmente como referencia. Los residuos que aparecen en negrillas son aminoácidos D, pero pueden ser opcionalmente aminoácidos L. Todos los péptidos están enlazados a través de enlaces peptídicos a menos que se indique de otra manera. Las abreviaturas se listan al final de esta especificación. En la columna de "SEQ ID NO", "NR", significa que no se requiere listado de secuencia para la secuencia dada.

CUADRO 1

Secuencias peptídicas miméticas de la EPO

Secuencia/estructura	SEQ ID NO:
YXCXXGPXTWXCXP	1
YXCXXGPXTWXCXP-YXCXXGPXTWXCXP	1
YXCXXGPXTWXCXP-Λ-YXCXXGPXTWXCXP	1
YXCXXGPXTWXCXP-Λ- (ε-amina) 	1
YXCXXGPXTWXCXP-Λ-(α-amina)	1
GGTYSCHFGPLTWVCKPQGG	2
GGDYHCRMGPLTWVCKPLGG	3
GGVYACRMGPITWVCSPLGG	4
VGNYMCHFGPITWVCRPGGG	5
GGLYLCRFGPVTWDCGYKGG	6
GGTYSCHFGPLTWVCKPQGG	7
GGTYSCHFGPLTWVCKPQGG-GGTYSCHFGPLTWVCKPQGG	7
GGTYSCHFGPLTWVCKPQGG-Λ-GGTYSCHFGPLTWVCKPQGG	7
GGTYSCHFGPLTWVCKPQGGSSK	8
GGTYSCHFGPLTWVCKPQGGSSK-GGTYSCHFGPLTWVCKPQGGSSK	8
GGTYSCHFGPLTWVCKPQGGSSK-Λ-GGTYSCHFGPLTWVCKPQGGSSK	8



5	GGTYSCHFGPLTWVCKPQGGSS (α-amina)	8
	GGTYSCHFGPLTWVCKPQGGSSK (-Λ-biotina)	8
	$CX_4X_5GPX_8TWX_7C$	9
	GGTYSCHGPLTWVCKPQGG	10
	VGNYMAHMGPITWVCRPGG	11
	GGPHHVYACRMGPLTWIC	12
	GGTYSCHFGPLTWVCKPQ	13
	GGLYACHMGPMTWVCQPLRG	14
	TIAQYICYMGPETWECRPSPKA	15
	YSCHFGPLTWVCK	16
	YCHFGPLTWVC	17
10	$X_3X_4X_5GPX_8TWX_7X_8$	18
	$YX_2X_3\ X_4X_5GPX_8TWX_7X_8$	19
	$X_1YX_2X_3X_4X_5GPX_8X_7X_8X_9X_{10}X_{11}$	20
	$X_1YX_2CX_4X_5GPX_8TWX_7CX_9X_{10}X_{11}$	21
	GGLYLCRFGPVTWDCGYKGG	22
	GGTYSCHFGPLTWVCKPQGG	23
	VGNYMCHFGPITWVCRPGGG	24
	GGVYACRMGPITWVCSPLGG	25
	TIAQYICYMGPETWECRPSPKA	26
	YSCHFGPLTWVCK	27
	YCHFGPLTWVC	28
15	SCHFGPLTWVCK	29
	$(AX_2)_nX_3X_4X_5GPX_8TWX_7X_8$	30

Las actividades biológicas de la EPO son bien conocidas en la técnica. Véase, por ejemplo, Anagnostou A et al. Erythropoietin has a mitogenic and positive chemotactic effect on endothelial cells. Proceedings of 20 the National Academy of Science (EUA) 87:5978-82 (1990); Fandrey J and Jelkman WE Interleukin 1 and tumor necrosis factor-alpha inhibit erythropoietin production in vitro. Annals of the New York Academy of Science 628:250-5 (1991); Geissler K et al., Recombinant human erythropoietin: A multipotential

hemopoietic growth factor in vivo and in vitro. Contrib. Nephrol. 87:1-10 (1990); Gregory CJ Erythropoietin sensitivity as a differentiation marker in the hemopoietic system. Studies of three erythropoietic colony responses in culture. Journal of Cellular Physiology 89:289-301 (1976); Jelkman W et al Monokines inhibiting erythropoietin production in human hepatoma cultures and in isolated perfused rat kidneys. Life Sci. 50:301-8 (1992); Kimata H et al Human recombinant erythropoietin directly stimulates B cell immunoglobulin production and proliferation in serum-free medium. Clinical and Experimental Immunology 85:151-6 (1991); Kimata H et al Erythropoietin enhances immunoglobulin production and proliferation by human plasma cells in a serum-free medium. Clin. Immunology Immunopathol. 59:495-501 (1991); Kimata H et al. Effect of recombinant human erythropoietin on human IgE production in vitro Clinical and Experimental Immunology 83:483-7 (1991); Koury MJ and Bondurant MC Erythropoietin retards DNA breakdown and prevents programmed cell death in erythroid progenitor cells. Science 248:378-81 (1990); Lim VS et al Effect of recombinant human erythropoietin on renal function in humans. Kidney International 37:131-6 (1990); Mitjavila MT et al Autocrine stimulation by erythropoietin and autonomous growth of human erythroid leukemic cells in vitro. Journal of Clinical Investigation 88:789-97 (1991); Andre M et al Performance of an immunoradiometric assay of erythropoietin and results for specimens from anemic and polycythemic patients. Clinical Chemistry 38:758-63 (1992); Hankins WD et al Erythropoietin-dependent and erythropoietin-producing cell lines. Implications

for research and for leukemia therapy. Annals of the New York Academy of Science 554:21-8 (1989); Kendall RGT et al Storage and preparation of samples for erythropoietin radioimmunoassay. Clin. Lab. Haematology 13:189-96 (1991); Krumvieh D et al Comparison of relevant biological assays for the determination of biological active erythropoietin. Dev. Biol. Stand. 69:15-22 (1988); Ma DD et al Assessment of an EIA for measuring human serum erythropoietin as compared with RIA and an in-vitro bioassay. British Journal of Haematology 80:431-6 (1992); Noe G et al A sensitive sandwich ELISA for measuring erythropoietin in human serum British Journal of Haematology 80:285-92 (1992); Pauly JU et al Highly specific and highly sensitive enzyme immunoassays for antibodies to human interleukin 3 (IL3) and human erythropoietin (EPO) in serum. Behring Institut Mitteilungen 90:112-25 (1991); Sakata S and Enoki Y Improved microbioassay for plasma erythropoietin based on CFU-E colony formation. Ann. Hematology 64:224-30 (1992); Sanengen T et al Immunoreactive erythropoietin and eritropoyesis stimulating factor(s) in plasma from hypertransfused neonatal and adult mice. Studies with a radioimmunoassay and a cell culture assay for erythropoietin. Acta Physio. Scand. 135:11-6 (1989); Widness JA et al A sensitive and specific erythropoietin immunoprecipitation assay: application to pharmacokinetic studies. Journal of Lab. Clin. Med. 119:285-94 (1992); para una información adicional, véanse también las líneas celulares individuales utilizadas en los bioensayos individuales. Cada una de las referencias anteriores se incorpora en su totalidad en la presente como referencia. La

EPO puede probarse empleando líneas celulares tales como HCD57, NFS-60, TF-1 y UT-7, que responden al factor. La actividad de la EPO puede valorarse también en un ensayo de formación de colonia, determinando el número de CFU-E de células de médula ósea. Un método de detección alterno y completamente diferente es la cuantificación mediante RT-PCR de las citocinas.

Un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO, o una porción o variante especificada del mismo, que proporciona parcialmente o de manera preferida sustancialmente al menos una actividad biológica de al menos una proteína o fragmento, puede unirse a la proteína o ligando del fragmento y proporcionar por lo tanto, al menos una actividad que está mediada de otra manera a través de la unión de la proteína a al menos un ligando o receptor de la proteína o a través de otros mecanismos dependientes o mediados por la proteína. Como se utiliza en la presente, el término "actividad del mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO", se refiere a un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO que puede que puede modular o causar al menos una actividad dependiente de la proteína por aproximadamente 20-10,000%, de manera preferida por al menos aproximadamente 60, 70, 80, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 700, 800, 900, 1000, 2000, 3000, 4000, 5000, 6000, 7000, 8000, 9000% o más, dependiendo del ensayo.

La capacidad de un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada para proporcionar al menos una actividad dependiente de la proteína, se valora de manera preferida mediante al menos un ensayo biológico de la proteína adecuado, como se describe en la presente y/o como se conoce en la técnica. Un mimeticuerpo humano central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada de la invención, puede ser similar a cualquier clase (IgG, IgA, IgM, etc.) o isotipo y puede comprender al menos una porción de una cadena ligera kappa o lambda. En una modalidad, el mimeticuerpo humano central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada, comprende un fragmento o variable de la cadena pesada de IgG, una región de bisagra, CH2 y CH3, por ejemplo, al menos uno de los isotipos, IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4.

Al menos un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada de la invención, se une a al menos un ligando especificado, específico para al menos una proteína, subunidad, fragmento, porción o cualquier combinación de los mismos. El al menos un péptido mimético de la EPO de al menos un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO, una porción o variante especificada de la presente invención, puede unirse opcionalmente a al menos un epitopo de ligando especificado del ligando. El epitopo de unión puede comprender cualquier combinación de al menos una secuencia de aminoácidos de al menos 1-3 aminoácidos a toda la porción especificada

de los aminoácidos contiguos de las secuencias seleccionadas del grupo que consiste de un ligando de la proteína, tal como un receptor de la EPO o una porción del mismo.

Tales mimeticuerpos pueden prepararse uniendo varias porciones de la Fórmula (I) del mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO utilizando técnicas conocidas, preparando y expresando al menos una (es decir, una o más) moléculas de ácidos nucleicos que codifican el mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO, utilizando técnicas conocidas de tecnología de ADN recombinante o utilizando cualquier otro método adecuado, tal como síntesis química.

Los mimeticuerpos que se unen a los ligandos o receptores de la EPO humana y que comprenden al menos una porción que define una región variable de cadena pesada o ligera, pueden prepararse utilizando métodos adecuados, tales como la representación del fago (Katsube, Y., et al., Int J Mol. Med, 1(5):863-868 (1998)) o métodos que emplean animales transgénicos, como se conoce en la técnica y/o como se describe en la presente. El mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO, una porción o variante especificada, puede expresarse utilizando el ácido nucleico codificante o la porción del mismo en una célula hospedera adecuada.

De manera preferida, tales mimeticuerpos o fragmentos que se unen al ligando de los mismos, pueden unirse a los ligandos o receptores de la EPO humana con alta afinidad (por ejemplo, K_D menor que o igual a

aproximadamente 10^{-7} M). Las secuencias de aminoácidos que son sustancialmente las mismas que las secuencias descritas en la presente, incluyen secuencias que comprenden sustituciones conservadoras de aminoácidos, así como supresiones y/o inserciones de aminoácidos. Una sustitución conservadora de aminoácidos se refiere al reemplazo de un primer aminoácido por un segundo aminoácido que tiene propiedades químicas y/o físicas (por ejemplo, carga, estructura, polaridad, hidrofobicidad/hidrofilicidad), que son similares a aquéllas del primer aminoácido. Las sustituciones conservadoras incluyen el reemplazo de un aminoácido por otro dentro de los siguientes grupos: lisina (K), arginina (R) e histidina (H); aspartato (D) y glutamato (E); asparagina (N), glutamina (Q), serina (S), treonina (T), tirosina (Y), K, R, H, D y E; alanina (A), valina (V), leucina (L), isoleucina (I), prolina (P), fenilalanina (F), triptofano (W), metionina (M), cisteína (C) y glicina (G); F, W y Y; C, S y T.

Códigos de los aminoácidos

Los aminoácidos que constituyen los mimeticuerpos o las porciones o variantes especificadas de la presente invención, con frecuencia están abreviados. Las designaciones de los aminoácidos pueden indicarse mediante la designación del aminoácido por su código de una sola letra, su código de tres letras, nombre, o tres codones nucleotídicos, como es bien entendido en la técnica (véase, Alberts, B., et al., Molecular Biology of The

Cell, Tercera Ed., Garland Publishing, Inc., New York, 1994), como se presenta en el Cuadro.

CUADRO 2

CODIGO DE UNA SOLA LETRA	CODIGO DE TRES LETRAS	NOMBRE	TRES CODONES NUCLEOTIDOS
A	Ala	Alanina	GCA, GCC, GCG, GCU
C	Cys	Cisteína	UGC, UGU
D	Asp	Acido aspártico	GAC, GAU
E	Glu	Acido glutámico	GAA, GAG
F	Phe	Fenilanina	UUC, UUU
G	Gly	Glicina	GGA, GGC, GGG, GGU
H	His	Histidina	CAC, CAU
I	Ile	Isoleucina	AUA, AUC, AUU
K	Lys	Lisina	AAA, AAG
L	Leu	Leucina	UUA, UUG, CUA, CUC, CUG, CUU
M	Met	Metionina	AUG
N	Asn	Asparagina	AAC, AAU
P	Pro	Prolina	CCA, CCC, CCG, CCU
Q	Gln	Glutamina	CAA, CAG
R	Arg	Arginina	AGA, AGG, CGA, CGC, CGG, CGU
S	Ser	Serina	AGC, AGU, UCA, UCC, UCG, UCU
T	Thr	Treonina	ACA, ACC, ACG, ACU
V	Val	Valina	GUA, GUC, GUG, GUU
W	Trp	Triptofano	UGG
Y	Tyr	Tirosina	UAC, UAU

Un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada de la presente invención, puede

incluir una o más sustituciones, supresiones o adiciones de aminoácidos, ya sea de mutaciones naturales o manipulación humana, como se especifica en la presente. Tales secuencias u otras que pueden utilizarse en la presente invención, incluyen, de manera no exclusiva, las siguientes secuencias presentadas en el Cuadro 3, como se describe además en las Figuras 1-42 de la solicitud provisional de E.U.A. 60/507,349, presentada en 30/09/2003, incorporada completamente como referencia en la presente, que corresponden a las Figuras 1-41 de la Solicitud del PCT No. US04/19783, presentada en Junio 17, del 2004, incorporada completamente en la presente como referencia, con las correspondientes SEQ ID NOS: 31-72. Estas Figuras 1-42 referidas (SEQ ID NOS: 31-72), o las Figuras 1-41 de la PCT US04/19783, muestran ejemplos de secuencias de la región variable/constante de cadena pesada/ligera, armazones/subdominios y sustituciones, porciones de las cuales pueden utilizarse en las proteínas derivadas de Ig de la presente Invención, como se enseña en la presente.

CUADRO 3

SEQ ID NO			AA NO	REGIONES						
				FR1	CDR1	FR2	CDR2	FR3	CDR3	FR4
31	Región variable de cadena pesada	Vh1	125	1-31	32	33-46	47	48-79	80	81-125
32		Vh2	124	1-30	31	32-45	46	47-78	79	80-124
33		Vh3a	100	1-31	32	33-46	47	8-79	80	81-100
34		Vh3b	102	1-30	31	32-45	46	47-78	79	80-102
35		Vh3c	101	1-30	31	32-45	46	47-79	80	81-101
36		Vh4	108	1-33	34	35-48	49	50-81	82	83-108
37		Vh5	132	1-31	32	33-46	47	48-79	80	81-132
38		Vh6	125	1-30	31	32-45	46	47-78	79	80-125
39		Vh7	91	1-30	31	32-45	46	47-78	79	80-91
40	Región variable de cadena ligera	κ1-4	93	1-24	25	26-40	41	42-73	74	75-93
41		κ2	92	1-23	24	25-39	40	41-72	73	74-92
42		κ3	91	1-23	24	25-39	40	41-72	73	74-91
43		κ5	85	1-23	24	25-39	40	41-72	73	74-85
44		κnew1	79	1-17	18	19-33	34	35-66	67	68-79
45		κnew2	77	1-15	16	17-31	32	33-64	65	66-77
46		κnew3	95	1-24	25	26-40	41	42-73	74	75-95
47		λ1a	98	1-22	23	24-38	39	40-71	72	73-98
48		λ1b	99	1-23	24	25-39	40	41-72	73	74-99
49		λ2	99	1-22	23	24-38	39	40-71	72	73-99
50		λ3a	107	1-22	23	24-38	39	40-71	72	73-107
51		λ3b	93	1-22	23	24-39	40	41-72	73	74-93
52		λ3c	98	1-22	23	24-38	39	40-71	72	73-98
53		λ3e	98	1-22	23	24-38	39	40-71	72	73-98
54		λ4a	94	1-22	23	24-38	39	40-71	72	73-94
55		λ4b	95	1-22	23	24-38	39	40-71	72	73-95
56		λ5	88	1-22	23	24-39	40	41-74	75	76-88
57		λ6	101	1-22	23	24-38	39	40-73	74	75-101
58		λ7	89	1-22	23	24-38	39	40-71	72	73-89
59		λ8	89	1-22	23	24-38	39	40-71	72	73-89
60		λ9	91	1-22	23	24-38	39	40-79	80	81-91
61		λ10	87	1-22	23	24-38	39	40-71	72	73-87

SEQ ID NO			AA NO	REGIONES						
				CH1	bisa-gra1	bisa-gra2	bisa-gra3	bisa-gra4	CH2	CH3
62	Región constante de cadena pesada	IgA1	354	1-102	103-121				122-222	223-354
63		IgA2	340	1-102	103-108				109-209	210-340
64		IgD	384	1-101	102-135	136-159			160-267	268-384
65		IgE	497	1-103					104-210	211-318
66		IgG1	339	1-98	99-113				114-223	224-339
67		IgG2	326	1-98	99-110				111-219	220-326
68		IgG3	377	1-98	99-115	116-130	131-145	146-160	161-270	271-377
69		IgG4	327	1-98	99-110				111-220	221-327
70		IgM	476	1-104					105-217	218-323
71	Región constante de cadena ligera	Igκc	107							
72		Igλc	107							

Por supuesto, el número de sustituciones de aminoácidos que un experto haría, depende de muchos factores, incluyendo aquéllos descritos anteriormente. Hablando generalmente, el número de sustituciones, inserciones o supresiones de aminoácidos para al menos uno de un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO, no será mayor que 40, 30, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1 aminoácidos, tales como 1-30 o cualquier intervalo o valor en el mismo, como se especifica en la presente.

La siguiente descripción de los componentes de un mimeticuerpo central de la región de bisagra de la EPO de la presente invención se basa en el uso de la fórmula I de la presente invención,

((V(m)-P(n)-L(o)-H(p)-CH2(q)-CH3(r))(s),

en donde V es al menos una porción de un término N de una región variable de inmunoglobulina, P es al menos un péptido bioactivo, L es al menos un polipéptido enlazante, H es al menos una porción de al menos una región de bisagra de la inmunoglobulina, CH2 es al menos una porción de una región constante CH2 de inmunoglobulina, CH3 es al menos una porción de una región constante CH3 de inmunoglobulina, m, n, o, p, q, r y s son de manera independiente un entero entre 0, 1 ó 2 y 10, que imitan diferentes tipos de moléculas de inmunoglobulina, por ejemplo, de manera no exclusiva IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA, IgM, IgD, IgE y lo similar, o cualquier subclase de las mismas, o cualquier combinación de las mismas.

En los mimeticuerpos centrales de la región de bisagra de la presente invención, la porción V N terminal opcional pueden comprende 1-20 aminoácidos de al menos una región del armazón 1 (FR1) variable de cadena pesada, por ejemplo, como se presenta en las Figuras 1-9 (SEQ ID NOS: 31-39), o al menos una región variable LC, por ejemplo, como se presenta en las Figuras 10-31 (SEQ ID NOS: 40-61), de la solicitud provisional de E.U.A. 60/507,349, presentada en 30/09/2003, incorporada completamente como

referencia en la presente, que corresponden a las Figuras 1-41 de la Solicitud del PCT No. US04/19783, presentada en Junio 17, del 2004, incorporada completamente en la presente como referencia, incluyendo sustituciones, supresiones o inserciones como se presenta en estas Figuras, con aquéllas de las Figuras 5, 6 y 8 preferidas. También son preferidas las secuencias variables que comprenden la secuencia Q-X-Q.

La porción P puede comprender al menos cualquier péptido terapéutico como se conoce en la técnica o como se describe en la presente, tal como, de manera no exclusiva, aquéllos presentados en el Cuadro 1, SEQ ID NOS: 1-30, o como se conoce en la técnica, o cualquier combinación o secuencia de consenso de los mismos, o cualquier proteína de fusión de los mismos.

La secuencia enlazante opcional puede ser cualquier enlazante peptídico como se conoce en la técnica. La secuencia preferida incluye cualquier combinación de G y S, por ejemplo, X_1-X_2-X_3-X_4-X_n, en donde X puede ser G o S, y n puede ser 5-30. Los ejemplos no limitantes incluyen, GS, GGGS, GSGGGS, GSGGGSGG, y lo similar.

En la presente invención, la porción CH1 no se utiliza y un número variable de aminoácidos del término N de la región de bisagra se suprime, por ejemplo, como se refiere en las Figuras 1-42 de la solicitud provisional de E.U.A. 60/507,349, presentada en 30/09/2003, incorporada completamente como referencia en la presente, que corresponden a las Figuras 1-41 de la Solicitud del PCT No. US04/19783, presentada en Junio

17, del 2004, incorporada completamente en la presente como referencia, y el Cuadro 3. El número variable de aminoácidos utilizados para la porción central de la región de bisagra de un mimeticuerpo de la presente invención incluye, de manera no exclusiva, la supresión de cualquiera de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57 ó 1-3, 2-5, 2-7, 2-8, 3-9, 4-10, 5-9, 5-10, 5-15, 10-20, 2-30, 20-40, 10-50, o cualquier intervalo o valor en el mismo, de los aminoácidos N terminales de al menos una región de bisagra, por ejemplo, como se presenta en las Figuras 32-40 de la solicitud provisional de E.U.A. 60/507,349, presentada en 30/09/2003, incorporada completamente como referencia en la presente, que corresponden a las Figuras 1-41 de la Solicitud del PCT No. US04/19783, presentada en Junio 17, del 2004, incorporada completamente en la presente como referencia, o el Cuadro 3 anterior, por ejemplo, de manera no exclusiva, la supresión de cualquiera o todos de los aminoácidos 99-101 a 105-157 de los aminoácidos 99-105, 99-108, 99-111, 99-112, 99-113, 99-114, 99-115, 99-119, 99-125, 99-128, 99-134, 99-140, 99-143, 99-149, 99-155 y 99-158 de las Figuras 32-40 de la solicitud provisional de E.U.A. 60/507,349, presentada en 30/09/2003, incorporada completamente como referencia en la presente, que corresponden a las Figuras 1-41 de la Solicitud del PCT No. US04/19783, presentada en Junio 17, del 2004, incorporada completamente en la presente como referencia, que corresponden a las SEQ ID NOS: 62-70, incluyendo las sustituciones,

inserciones o supresiones descritas en las Figuras 32-40 de la solicitud provisional de E.U.A. 60/507,349, presentada en 30/09/2003, incorporada completamente como referencia en la presente, que corresponden a las Figuras 1-41 de la Solicitud del PCT No. US04/19783, presentada en Junio 17, del 2004, incorporada completamente en la presente como referencia. En las modalidades preferidas, una región central de la bisagra de la presente invención incluye una supresión del término N de la región de bisagra para proporcionar una región central de bisagra que incluye una supresión hasta, pero no incluyendo un residuo Cys o hasta, pero no incluyendo una secuencia Cys-Pro-Xaa-Cys. En una modalidad preferida adicional, cada secuencia central de la región de bisagra utilizada en un mimeticuerpo central de la región de bisagra de la presente invención, incluye los aminoácidos 109-113 ó 112-113 de la Figura 36 (SEQ ID NO: 66) (IgG1); 105-110 ó 109-110 de la Figura 37 (SEQ ID NO: 67) (IgG2); 111-160, 114-160, 120-160, 126-160, 129-160, 135-160, 141-160, 144-160, 150-160, 156-160 y 159-160 de la Figura 38 (SEQ ID NO: 68) (IgG3); o 106-110 ó 109-110 de la Figura 39 (SEQ ID NO: 69) (IgG4).

Las secuencias CH2, CH3 y la CH4 opcional pueden ser cualquier secuencia humana adecuada o compatible con la humana, por ejemplo, como se presenta en las Figuras 1-42 de la solicitud provisional de E.U.A. 60/507,349, presentada en 30/09/2003, incorporada completamente como referencia en la presente, que corresponden a las Figuras 1-41 de la Solicitud del PCT No. US04/19783, presentada en Junio 17, del 2004,

incorporada completamente en la presente como referencia, y el Cuadro 3, o como se conoce en la técnica, o cualquier combinación o secuencia de consenso de los mismos, o cualquier proteína de fusión de los mismos.

Los aminoácidos en un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada de la presente invención, que son esenciales para la función, pueden identificarse mediante métodos conocidos en la técnica, tales como la mutagénesis dirigida al sitio o la mutagénesis por exploración de la alanina (por ejemplo, Ausubel, supra, Capítulos 8, 15; Cunningham y Wells, Science 244:1081-1085 (1989)). El último procedimiento introduce mutaciones únicas de alanina en cada residuo en la molécula. Las moléculas mutantes resultantes se prueban a continuación para la actividad biológica, tal como, de manera no exclusiva, al menos una actividad relacionada con la proteína, como se especifica en la presente o como se conoce en la técnica. Los sitios que son críticos para el mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada que se une, también pueden identificarse mediante análisis estructurales, tales como cristalización, resonancia magnética nuclear o marcado por fotoafinidad (Smith, et al., J. Mol. Biol. 224:899-904 (1992) y de Vos, et al., Science 255:306-312 (1992)).

Los mimeticuerpos o porciones o variantes especificadas de la presente invención, pueden comprender como la porción P de Fórmula (I), de manera no exclusiva, al menos una porción, secuencia o combinación seleccionada de 3 a todas de al menos una de las SEQ ID NOS: 1-30. Las

variantes no limitantes que pueden mejorar o mantener al menos una de las actividades listadas anteriormente incluyen, de manera no exclusiva, cualquiera de los polipéptidos anteriores, que comprenden además al menos una mutación que corresponde a al menos una sustitución, inserción o supresión que no afecta de manera significativa las actividades o funciones biológicas adecuadas del mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO.

Un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada puede comprender opcionalmente, al menos una porción funcional de al menos un polipéptido como la porción P de Fórmula (I), al menos uno de 90-100% de las SEQ ID NOS: 1-30. Un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO puede comprender además opcionalmente una secuencia de aminoácido para la porción P de Fórmula (I), seleccionada de una o más de las SEQ ID NOS: 1-30.

En una modalidad, la secuencia de aminoácidos P o una porción de la misma, tiene aproximadamente 90-100% de identidad (es decir, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100 o cualquier intervalo o valor en el mismo) con la secuencia de aminoácidos correspondiente de la porción correspondiente de al menos una de las SEQ ID NOS: 1-30. De manera preferida, el 90-100% de identidad de la secuencia de aminoácidos (es decir, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100 o cualquier intervalo o valor en el mismo), se determina utilizando un algoritmo para computadora adecuado, como se conoce en la técnica.

Los mimeticuerpos o porciones o variantes especificadas de la presente invención pueden comprender cualquier número de residuos de aminoácidos contiguos de un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada de la presente invención, en donde el número se selecciona del grupo de enteros que consisten de 10-100% del número de residuos contiguos en un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO. Opcionalmente, esta subsecuencia de aminoácidos contiguos es al menos aproximadamente 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 210, 220, 230, 240, 250 o más aminoácidos de longitud, o cualquier intervalo o valor en el mismo. Además, el número de tales subsecuencias puede ser cualquier entero seleccionado del grupo que consiste de 1 a 20, tal como al menos 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, o más.

Como apreciarán aquellos con experiencia, la presente invención incluye al menos un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO biológicamente activo o una porción o variante especificada de la presente invención. Los mimeticuerpos o porciones o variantes especificadas biológicamente activos, tienen una actividad específica de al menos 20%, 30% o 40%, y de manera preferida al menos 50%, 60% o 70%, y de manera más preferida al menos 80%, 90% o 95%-1000% de aquélla de la proteína nativa (no sintética), endógena o relacionada y la proteína insertada o fusionada

conocida o porciones o variantes especificadas. Los métodos para probar y cuantificar que miden la actividad enzimática y la especificidad por el sustrato, son bien conocidos por aquellos con experiencia en la técnica.

En otro aspecto, la invención se relaciona con los mimeticuerpos humanos y con los fragmentos que se unen al ligando como se describe en la presente, los cuales se modifican por la unión covalente de una porción orgánica. Tal modificación puede producir un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o un fragmento que se une al ligando con propiedades farmacocinéticas mejoradas (por ejemplo, vida media en suero incrementada in vivo). La porción orgánica puede ser un grupo polimérico hidrofílico lineal o ramificado, un grupo de ácido graso o un grupo de éster de ácido graso. En las modalidades particulares, el grupo polimérico hidrofílico puede tener un peso molecular de aproximadamente 800 a aproximadamente 120,000 Daltons, y puede ser un polialcanglicol (por ejemplo, polietilenglicol (PEG), polipropilenglicol (PPG)), un polímero de carbohidrato, un polímero de aminoácido o una polivinil pirrolidona, y el grupo del ácido graso o el éster del ácido graso puede comprender de aproximadamente ocho a aproximadamente cuarenta átomos de carbono.

Los mimeticuerpos modificados y los fragmentos que se unen al ligando de la invención, pueden comprender una o más porciones orgánicas que están unidas covalentemente, directa o indirectamente al mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o a una porción o variante especificada. Cada porción orgánica que se une a un mimeticuerpo central de

la región de bisagra, mimético de la EPO o un fragmento que se une al ligando de la invención, puede ser de manera independiente un grupo polimérico hidrofílico, un grupo de ácido graso o un grupo de éster de ácido graso. Como se utiliza en la presente, el término "ácido graso" abarca ácidos monocarboxílicos y ácidos dicarboxílicos. Un "grupo polimérico hidrofílico", como se utiliza en término en la presente, se refiere a un polímero orgánico que es más soluble en agua que en octano. Por ejemplo, la polilisina es más soluble en agua que en octano. Así, un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO modificado por la unión covalente de polilisina está abarcado por la invención. Los polímeros hidrofílicos adecuados para modificar los mimeticuerpos de la invención pueden ser lineales o ramificados e incluyen, por ejemplo, polialcanglicoles (por ejemplo, PEG, monometoxi-polietilenglicol (mPEG), PPG y lo similar), carbohidratos (por ejemplo, dextrano, celulosa, oligosacáridos, polisacáridos y lo similar), polímeros de aminoácidos hidrofílicos (por ejemplo, polilisina, poliarginina, poliaspartato y lo similar), óxidos de polialcano (por ejemplo, óxido de polietileno, óxido de polipropileno y lo similar) y polivinil pirrolidona. De manera preferida, el polímero hidrofílico que modifica el mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO de la invención tiene un peso molecular de aproximadamente 800 a aproximadamente 150,000 Daltons como una entidad molecular separada. Por ejemplo, puede utilizarse PEG_{2500}, PEG_{5000}, PEG_{7500}, PEG_{9000}, PEG_{10000}, PEG_{12500}, PEG_{15000} y PEG_{20000}, en donde el subíndice es el peso molecular promedio del polímero en Daltons.

El grupo polimérico hidrofílico puede sustituirse con uno a aproximadamente seis grupos alquilo de ácido graso o de éster de ácido graso. Los polímeros hidrofílicos que están sustituidos con un grupo de ácido graso o de éster de ácido graso pueden prepararse empleando métodos adecuados. Por ejemplo, un polímero que comprende un grupo amina puede acoplarse a un carboxilato del ácido graso o el éster del ácido graso, y un carboxilato activado (por ejemplo, activado con N,N-carbonil diimidazol) en un ácido graso o un éster de ácido graso puede acoplarse a un grupo hidroxilo en un polímero.

Los ácidos grasos y los ésteres de ácido graso adecuados para modificar los mimeticuerpos de la invención pueden estar saturados o pueden contener una o más unidades de insaturación. Los ácidos grasos que son adecuados para modificar los mimeticuerpos de la invención incluyen, por ejemplo, n-dodecanoato (C_{12}, laurato), n-tetradecanoato (C_{14}, miristato), n-octadecanoato (C_{18}, estearato), n-eicosanoato (C_{20}, araquidato), n-docosanoato (C_{22}, behenato), n-triacontanoato (C_{30}), n-tetracontanoato (C_{40}), cis-Δ9-octadecanoato (C_{18}, oleato), todos cis-Δ5,8,11,14-eicosatetraenoato (C_{20}, araquidonato), ácido octandioico, ácido tetradecandioico, ácido octadecandioico, ácido docosandioico y lo similar. Los ésteres de ácidos grasos adecuados incluyen monoésteres de ácidos dicarboxílicos que comprenden un grupo alquilo inferior lineal o ramificado. El grupo alquilo inferior puede comprender de uno a aproximadamente doce, de manera preferida uno a aproximadamente seis átomos de carbono.

Los mimeticuerpos humanos modificados y los fragmentos que se unen al ligando, pueden prepararse utilizando métodos adecuados, tales como mediante reacción con uno o más agentes modificantes. Un "agente modificante" como se utiliza el término en la presente, se refiere a un grupo orgánico adecuado (por ejemplo, polímero hidrofílico, un ácido graso, un éster de ácido graso) que comprende un grupo activante. Un "grupo activante" es una porción química o un grupo funcional que puede, bajo condiciones adecuadas, reaccionar con un segundo grupo químico formando por lo tanto un enlace covalente entre el agente modificante y el segundo grupo químico. Por ejemplo, los grupos activantes reactivos con amina incluyen grupos electrofílicos tales como tosilato, mesilato, halo (cloro, bromo, flúor, yodo), ésteres de N-hidroxisuccinimidilo (NHS) y lo similar. Los grupos activantes que pueden reaccionar con los tioles incluyen, por ejemplo, maleimida, yodoacetilo, acrilolilo, disulfuros de piridilo, tiol del ácido 5-tiol-2-nitrobenzoico (TNB-tiol) y lo similar. Un grupo funcional aldehído puede acoplarse a moléculas que contienen amina o hidrazida, y un grupo azida puede reaccionar con un grupo fósforo trivalente para formar enlaces de fosforamidato o fosforimida. Los métodos adecuados para introducir los grupos activantes en las moléculas son conocidos en la técnica (véase, por ejemplo, Hermanson, G. T., *Bioconjugate Techniques*, Academic Press: San Diego, CA (1996)). Un grupo activante puede unirse directamente al grupo orgánico (por ejemplo, polímero hidrofílico, ácido graso, éster de ácido graso), o a través de una porción enlazante, por ejemplo, un grupo de C_1-C_{12}

divalente, en donde uno o más átomos de carbono pueden reemplazarse por un heteroátomo tal como oxígeno, nitrógeno o azufre. Las porciones enlazantes adecuadas incluyen, por ejemplo, tetraetilenglicol, $-(CH_2)_3-$, $-NH-(CH_2)_6-NH-$, $-(CH_2)_2-NH-$ y $-CH_2-O-CH_2-CH_2-O-CH_2-CH_2-O-CH-NH-$. Los agentes modificantes que comprenden una porción enlazante, pueden producirse, por ejemplo, haciendo reaccionar una mono-Boc-alquildiamina (por ejemplo, mono-Boc-etilendiamina, mono-Boc-diaminohexano) con un ácido graso en la presencia de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDC), para formar un enlace amida entre la amina libre y el carboxilato del ácido graso. El grupo protector Boc puede eliminarse del producto mediante el tratamiento con ácido trifluoroacético (TFA) para exponer una amina primaria que puede acoplarse a otro carboxilato como se describe, o puede hacerse reaccionar con anhídrido maleico y el producto resultante ciclizarse para producir un derivado activado de maleimido del ácido graso. (Véase, por ejemplo, Thompson, et al., WO 92/16221, las enseñanzas completas de la cual se incorporan en la presente como referencia).

Los mimeticuerpos modificados de la invención pueden producirse haciendo reaccionar un mimeticuerpo humano central de la región de bisagra, mimético de la EPO o un fragmento que se une al ligando con un agente modificante. Por ejemplo, las porciones orgánicas pueden unirse al mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO de una manera no específica del sitio, empleando un agente modificante que reacción con amina, por ejemplo, un éster de NHS de PEG. Los mimeticuerpos

humanos modificados o los fragmentos que se unen al ligando, también pueden prepararse reduciendo los enlaces disulfuro (por ejemplo, enlaces disulfuro intracadena) de un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o un fragmento que se une al ligando. El mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO reducido o un fragmento que se une al ligando puede hacerse reaccionar entonces con un agente modificante que reacciona con un tiol, para producir el mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO modificado de la invención. Los mimeticuerpos humanos modificados y los fragmentos que se unen al ligando que comprenden una porción orgánica que se une a sitios específicos de un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada de la presente invención, pueden prepararse utilizando métodos adecuados, tales como proteólisis inversa (Fisch et al., *Bioconjugate Chem.*, 3:147-153 (1992); Werlen et al., *Bioconjugate Chem.*, 5:411-417 (1994); Kumaran et al., *Protein Sci.* 6(10):2233-2241 (1997); Itoh et al., *Bioorg. Chem.*, 2, 4(1):59-68 (1996); Capellas et al., *Biotechnol. Bioeng.*, 56(4):456-463 (1997)), y los métodos descritos en Hermanson, G. T., *Bioconjugate Techniques*, Academic Press: San Diego, CA (1996).

Composiciones de mimeticuerpos centrales de la región de bisagra, miméticos de la EPO

La presente invención también proporciona al menos una composición de un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de

la EPO o una porción o variante especificada que comprende al menos uno, al menos dos, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis o más mimeticuerpos o porciones o variantes especificadas de los mismos, como se describe en la presente y/o como se conoce en la técnica, que se proporcionan en una composición, mezcla o forma no natural. Tales porcentajes de la composición están en peso, volumen, concentración, molaridad o molalidad como soluciones, mezclas, suspensiones, emulsiones o coloides líquidos o secos, como se conoce en la técnica o como se describe en la presente.

Tales composiciones pueden comprender 0.00001-99.9999 por ciento en peso, volumen, concentración molaridad o molalidad como líquido, gas o soluciones, mezclas, suspensión, emulsiones o coloides secos, como se conoce en la técnica o como se describe en la presente, en cualquier intervalo o valor en el mismo, tal como, de manera no exclusiva 0.00001, 0.00003, 0.00005, 0.00009, 0.0001, 0.0003, 0.0005, 0.0009, 0.001, 0.003, 0.005, 0.009, 0.01, 0.02, 0.03, 0.05, 0.09, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1.0, 1.1, 1.2, 1.3, 1.4, 1.5, 1.6, 1.7, 1.8, 1.9, 2.0, 2.1, 2.2, 2.3, 2.4, 2.5, 2.6, 2.7, 2.8, 2.9, 3.0, 3.1, 3.2, 3.3, 3.4, 3.5, 3.6, 3.7, 3.8, 3.9, 4.0, 4.3, 4.5, 4.6, 4.7, 4.8, 4.9, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 99.1, 99.2, 99.3, 99.4, 99.5, 99.6, 99.7, 99.8, 99.9%. Tales composiciones de la presente invención incluyen por lo tanto, pero de manera no exclusiva, 0.00001-100 mg/ml y/o 0.00001-100 mg/g.

La composición puede comprender además opcionalmente una cantidad efectiva de la menos un compuesto o proteína seleccionado de al menos uno de un fármaco antiinfeccioso, un fármaco para el sistema cardiovascular (CV), un fármaco para el sistema nervioso central (CNS), un fármaco para el sistema nervioso autónomo (ANS), un fármaco para el tracto respiratorio, un fármaco para el tracto gastrointestinal (GI), un fármaco hormonal, un fármaco para el equilibrio de los fluidos o electrolítico, un fármaco hematológico, un fármaco antineoplásico, un fármaco para la inmunomodulación, un fármaco oftálmico, ótico o nasal, un fármaco tópico, un fármaco nutritivo o lo similar. Tales fármacos son bien conocidos en la técnica, incluyendo las formulaciones, indicaciones, dosificación y administración para cada uno presentado en la presente (véase, por ejemplo, Nursing 2001 Handbook of Drugs, 21ª edición, Springhouse Corp., Springhouse, PA, 2001; Health Professional's Drug Guide 2001, ed., Shannon, Wilson, Stang, Prentice-Hall, Inc, Upper Saddle River, NJ; Pharmcotherapy Handbook, Wells et al., ed., Appleton & Lange, Stamford, CT, cada una incorporada completamente en la presente como referencia).

El fármaco antiinfeccioso puede ser al menos uno seleccionado de amibicidas o al menos uno de antiprotozoarios, antihelmínticos, antimicóticos, antipalúdicos, antituberculosos o al menos un antileprótico, aminoglucósidos, penicilinas, cefalosporinas, tetraciclinas, sulfonamidas, fluoroquinolonas, antivirales, antiinfecciosos de macrólidos, antiinfecciosos misceláneos. El fármaco para el CV puede ser al menos uno seleccionado de

inotrópicos, antiarrítmicos, antianginosos, antihipertensores, antilipémicos, fármacos cardiovasculares misceláneos. El fármaco para el CNS puede ser al menos uno seleccionado de analgésicos no narcóticos o al menos uno seleccionado de antipiréticos, fármacos antiinflamatorio no esteroidales, narcóticos o al menos un analgésico opioide, hipnóticos sedantes, anticonvulsivos, antidepresivos, fármacos antiansiedad, antimicóticos, estimulantes del sistema nervioso central, antiparkinsonianos, fármacos misceláneos para el sistema nervioso central. El fármaco para el ANS puede ser al menos uno seleccionado de bloqueadores colinérgicos (parasimpatomiméticos), anticolinérgicos, adrenérgicos (simpatomiméticos), adrenérgicos (simpatolíticos), relajantes del músculo esquelético, bloqueadores neuromusculares. El fármaco para el tracto respiratorio puede ser al menos uno seleccionado de antihistaminas, broncodilatadores, expectorantes o al menos un antitusivo, fármacos respiratorios misceláneos. El fármaco para el tracto GI puede ser al menos uno seleccionado de antiácidos o al menos uno de absorbentes o al menos uno de antiflatulento, enzimas digestivas o al menos un solubilizante de los cálculos biliares, antidiarreicos, laxantes, antieméticos, fármacos antiúlcera. El fármaco hormonal puede ser al menos uno seleccionado de corticosteroides, andrógenos o al menos un esteroide anabólico, estrógenos o al menos una progestina, gonadotropina, fármacos antidiabéticos o al menos un glucagon, hormonas tiroideas, antagonistas de la hormona tiroidea, hormonas de la hipófisis, fármacos similares a la paratiroides. El fármaco para el equilibrio de

fluidos y electrolitos puede ser al menos uno seleccionado de diuréticos, electrolitos o al menos una solución de reemplazo, acidificantes o al menos un alcalinizante. El fármaco hematológico puede ser al menos uno seleccionado de hematínicos, anticoagulantes, derivados sanguíneos, enzimas trombolíticas. Los antineoplásicos pueden ser al menos uno seleccionado de fármacos alquilantes, antimetabolitos, antineoplásicos antibióticos, antineoplásicos que alteran el equilibrio hormonal, antineoplásicos misceláneos. El fármaco para la inmunomodulación puede ser al menos uno seleccionado de inmunosupresores, vacunas o al menos un toxoide, antitoxina, o al menos un antiveneno, sueros inmunes, modificadores de la respuesta biológica. Los fármacos oftálmicos, óticos y nasales pueden ser al menos uno seleccionado de antiinfecciosos oftálmicos, antiinflamatorios oftálmicos, mióticos, midriáticos, vasoconstrictores oftálmicos misceláneos fármacos óticos, nasales. El fármaco tópico puede ser al menos uno seleccionado de antiinfecciosos locales, escabicidas o al menos un pediculicida, corticosteroides tópicos. El fármaco nutritivo puede ser al menos uno seleccionado de vitaminas, minerales o calóricos. Véase, por ejemplo, el contenido de *Nursing 2001 Drug Handbook*, supra.

El al menos un amibicida o antiprotozoario puede ser al menos uno seleccionado de atovacuona, clorhidrato de cloroquina, fosfato de cloroquina, metronidazol, clorhidrato de metronidazol, isetionato de pentamidina. El al menos un antihelmíntico puede ser al menos uno seleccionado de mebendazol, pamoato de pirantel, tiabendazol. El al menos

un antimicótico puede ser al menos uno seleccionado de anfotericina B, complejo de anfotericina B sulfato de colesterilo, complejo de anfotericina B lípido, anfotericina B liposomal, fluconazol, flucitosina, griseofulvina de microtamaño, griseofulvina de ultramicrotamaño, itraconazol, quetoconazol, nistatina, clorhidrato de terbinafina. El al menos un antipalúdico puede ser al menos uno seleccionado de clorhidrato de cloroquina, fosfato de cloroquina, doxiciclina, sulfato de hidroxicloroquina, clorhidrato de mefloquina, fosfato de primaquina, pirimetamina, pirimetamina con sulfadoxina. El al menos un antituberculoso o antileprótico puede ser al menos uno seleccionado de clofazimina, cicloserina, dapsona, clorhidrato de etambutol, isoniazid, pirazinamida, rifabutina, rifampina, rifapentina, sulfato de estreptomicina. El al menos un aminoglucósido puede ser al menos uno seleccionado de sulfato de amicacina, sulfato de gentamicina, sulfato de neomicina, sulfato de estreptomicina, sulfato de tobramicina. La al menos una penicilina puede ser al menos una seleccionada de amoxcilina/clavulanato de potasio, trihidrato de amoxicilina, ampicilina, ampicilina sódica, trihidrato de ampicilina, ampicilina sódica/sulbactam sódico, cloxacilina sódica, dicloxacilina sódica, mezlocilina sódica, nafcilina sódica, oxacilina sódica, penicilina G benzatina, penicilina G potásica, penicilina G procaína, penicilina G sódica, penicilina V potásica, piperacilina sódica, piperacilina sódica/tazobactam sódico, ticarcilina disódica, ticarcilina disódica/clavulanato de potasio. La al menos una cefalosporina puede ser al menos una seleccionada de al menos uno de cefaclor, cefadroxilo, cefazolina sódico, cefdinir, clorhidrato de cefepime, cefixime,

cefmetazol sódico, cefonicid sódico, cefoperazona sódica, cefotaxima sódica, cefotetan disódico, cefoxitina sódica, cefpodoxima proxetilo, cefprozil, ceftazidime, ceftibuteno, ceftizoxima sódica, ceftriaxona sódica, cefuroxima axetilo, cefuroxima sódica, clorhidrato de cefalexina, monohidrato de cefalexina, cefradina, loracarbef. La al menos una tetraciclina puede ser al menos una seleccionada de clorhidrato de demeclociclina, doxiciclina de calcio, hiclato de doxiciclina, clorhidrato de doxiciclina, monohidrato de doxiciclina, clorhidrato de minociclina, clorhidrato de tetraciclina. La al menos una sulfonamida puede ser al menos una seleccionada de cotrimoxazol, sulfadiazina, sulfametoxazol, sulfisoxazol, sulfisoxazol acetilo. La al menos una fluoroquinolona puede ser al menos una seleccionada de mesilato de alatrofloxacina, ciprofloxacina, enoxacina, levofloxacina, clorhidrato de lomefloxacina, ácido nalidíxico, norfloxacina, ofloxacina, esparfloxacina, mesilato de trovafloxacina. La al menos una fluoroquinolona puede ser al menos una seleccionada de mesilato de alatrofloxacina, ciprofloxacina, enoxacina, levofloxacina, clorhidrato de lomefloxacina, ácido nalidíxico, norfloxacina, ofloxacina, esparfloxacina, mesilato de trovafloxacina. El al menos un antiviral puede ser al menos uno seleccionado de sulfato de abacavir, aciclovir sódico, clorhidrato de amantadina, amprenavir, cidofovir, mesilato de delavirdina, didanosina, efavirenz, famciclovir, fomivirsen sódico, foscarnet sódico, ganciclovir, sulfato de indinavir, lamivudina, lamivudina/zidovudina, mesilato de nelfinavir, nevirapina, fosfato de oseltamivir, ribavirina, clorhidrato de rimantadina, ritonavir, saquinavir,

mesilato de saquinavir, estavudina, clorhidrato de valaciclovir, zalcitabina, zanamivir, zidovudina. El al menos un antiinfeccioso de macrólido puede ser al menos uno seleccionado de azitromicina, claritromicina, diritromicina, eritromicina básica, estolato de eritromicina, etilsuccinato de eritromicina, lactobionato de eritromicina, estearato de eritromicina. El al menos un antiinfeccioso misceláneo puede ser al menos uno seleccionado de aztreonam, bacitracina, succinato de cloranfenicol sódico, clorhidrato de clindamicina, clorhidrato de palmitato de clindamicina, fosfato de clindamicina, imipenem y cilastatina sódica, meropenem, microcristales de nitrofurantoína, microcristales de nitrofurantoína, quinupristina/dalfopristina, clorhidrato de espectinomicina, trimetoprima, clorhidrato de vancomicina. (Véase, por ejemplo, pp. 24-214 de *Nursing 2001 Drug Handbook*).

El al menos un inotrópico puede ser al menos uno seleccionado de lactato de amrinona, digoxina, lactato de milrinona. El al menos un antiarrítmico puede ser al menos uno seleccionado de adenosina, clorhidrato de amiodarona, sulfato de atropina, tosilato de bretilio, clorhidrato de diltiazem, disopiramida, fosfato de disopiramida, clorhidrato de esmolol, acetato de flecainida, fumarato de ibutilida, clorhidrato de lidocaína, clorhidrato de mexiletina, clorhidrato de moricizina, fenitoína, fenitoína sódica, clorhidrato de procainamida, clorhidrato de propafenona, clorhidrato de propranolol, bisulfato de quinidina, gluconato de quinidina, poligalacturonato de quinidina, sulfato de quinidina, sotalol, clorhidrato de tocainida, clorhidrato de verapamilo. El al menos un antiangina puede ser al menos uno seleccionado de besilato de

amlodipidina, nitrato de amilo, clorhidrato de bepridilo, clorhidrato de diltiazem, dinitrato de isosorbida, mononitrato de isosorbida, nadolol, clorhidrato de nicardipina, nifedipina, nitroglicerina, clorhidrato de propranolol, verapamilo, clorhidrato de verapamilo. El al menos un antihipertensor puede ser al menos uno seleccionado de clorhidrato de acebutolol, besilato de amlodipina, atenolol, clorhidrato de benazeprilo, clorhidrato de betaxolol, fumarato de bisoprolol, candesartan cilexetilo, captopril, clorhidrato de carteolol, carvedilol, clonidina, clorhidrato de clonidina, diazóxido, clorhidrato de diltiazem, mesilato de doxazosina, enalaprilato, maleato de enalapril, mesilato de eprosartan, felodipina, mesilato de fenoldopam, fosinoprilo sódico, acetato de guanabenz, sulfato de guanadrel, clorhidrato de guanfacina, clorhidrato de hidralacina, irbesartan, isradipina, clorhidrato de labetalol, lisinoprilo, losartan de potasio, metildopa, clorhidrato de metildopa, succinato de metoprolol, tartrato de metoprolol, minoxidilo, clorhidrato de moexiprilo, nadolol, clorhidrato de nicardipina, nifedipina, nisoldipina, nitroprúsido sódico, sulfato de penbutolol, perindopril erbumina, mesilato de fentolamina, pindolol, clorhidrato de prazosina, clorhidrato propanoico, clorhidrato de quinapril, ramipril, telmisartan, clorhidrato de terazosina, maleato de timolol, trandolapril, valsartan, clorhidrato de verapamilo. El al menos un antilipémico puede ser al menos uno seleccionado de atorvastatina de calcio, cerivastatina sódica, colestiramina, clorhidrato de colestipol, fenofibrato (micronizado), fluvastatina sódica, gemfibrozil, lovastatina, niacina, pravastatina sódica, simvastatina. El al menos un fármaco misceláneo para el CV puede ser al menos uno

seleccionado de abciximab, alprostadilo, clorhidrato de arbutamina, cilostazol, bisulfato de clopidogrel, dipiridamol, eptifibatida, clorhidrato de midodrina, pentoxifilina, clorhidrato de ticlopidina, clorhidrato de tirofiban. (Véase, por ejemplo, pp. 215-336 de *Nursing 2001 Drug Handbook*).

El al menos un analgésico no narcótico o antipirético puede ser al menos uno seleccionado de acetaminofen, aspirina, trisalicilato de colina de magnesio, diflunisal, salicilato de magnesio. El al menos un fármaco antiinflamatorio no esteroidal puede ser al menos uno seleccionado de celecoxib, diclofenaco de potasio, diclofenaco sódico, etodolaco, fenoprofeno de calcio, flurbiprofeno, ibuprofeno, indometacina, trihidrato de indometacina sódica, cetoprofeno, trometamina de quetorolaco, nabumetona, naproxeno, naproxeno sódico, oxaprozina, piroxicam, rofecoxib, sulindaco. El al menos un narcótico o analgésico opioide puede ser al menos uno seleccionado de clorhidrato de alfentanilo, clorhidrato de buprenorfina, tartrato de butorfanol, fosfato de codeína, sulfato de codeína, citrato de fentanilo, sistema transdérmico de fentanilo, fentanilo transmucoso, clorhidrato de hidromorfona, clorhidrato de meperidina, clorhidrato de metadona, clorhidrato de morfina, sulfato de morfina, tartrato de morfina, clorhidrato de nalbufina, clorhidrato de oxicodona, pectinato de oxicodona, clorhidrato de oximorfona, clorhidrato de pentazocina, clorhidrato de pentazocina y clorhidrato de naloxona, lactato de pentazocina, clorhidrato de propoxifeno, napsilato de propoxifeno, clorhidrato de remifentanilo, citrato de sufentanilo, clorhidrato de tramadol. El al menos hipnótico sedante puede ser al menos uno seleccionado de hidrato de cloral,

estazolam, clorhidrato de flurazepam, pentobarbital, pentobarbital sódico, fenobarbital sódico, secobarbital sódico, temazepam, triazolam, zaleplon, tartrato de zolpidem. El al menos un anticonvulsivo puede ser al menos uno seleccionado de acetazolamida sódica, carbamazepina, clonazepam, clorazepate deipotásico, diazepam, divalproex sódico, etosuximde, fosfenitoían sódica, gabapentina, lamotrigina, sulfato de magnesio, fenobarbital, fenobarbital sódico, fenitoína, fenitoína sódica, fenitoína sódica (extendida, primidona, clorhidrato de tiagabina, topiramato, valproato sódico, ácido valproico. El al menos una antidepresivo puede ser al menos uno seleccionado de clorhidrato de amitriptilina, pamoato de amitriptilina, amoxapina, clorhidrato de bupropiona, bromhidrato de citalopram, clorhidrato de clomipramina, clorhidrato de desipramina, clorhidrato de doxepina, clorhidrato de fluoxetina, clorhidrato de imipramina, pamoato de imipramina, mirtazapina, clorhidrato de nefazodona, clorhidrato de nortriptilina, clorhidrato de paroxetina, sulfato de fenelzina, clorhidrato de sertralina, sulfato de tranilcipromina, maleato de trimipramina, clorhidrato de venlafaxina. El al menos un fármaco antiansiedad puede ser al menos uno seleccionado de alprazolam, clorhidrato de buspirona, clordiazepóxido, clorhidrato de clordiazepóxido, clorazepato dipotásico, diazepam, clorhidrato de doxepina, embonato de hidroxicina, clorhidrato de hidroxicina, pamoato de hidroxicina, lorazepam, mefrobamato, clorhidrato de midazolam, oxazepam. El al menos un fármaco antimicótico puede ser al menos uno seleccionado de clorhidrato de clorpromacina, clozapina, decanoato de de flufenacina, enantato de

fluefenacina, clorhidrato de flufenacina, haloperidol, decanoato de haloperidol, lactato de haloperidol, clorhidrato de loxapina, succinato de loxapina, besilato de mesoridacina, clorhidrato de molindona, olanzapina, perfenacina, pimozida, proclorperacina, fumarato de quetiapina, risperidona, clorhidrato de tioridacina, tiotixeno, clorhidrato de tiotixeno, clorhidrato de trifluoperacina. El al menos un estimulante del sistema nervioso central puede ser al menos uno seleccionado de sulfato de anfetamina, cafeína, sulfato de dextroanfetamina, clorhidrato de doxapram, clorhidrato de metanfetamina, clorhidrato de metilfenidato, modafinilo, pemolina, clorhidrato de fentermina. El al menos un antiparkinsoniano puede ser al menos uno seleccionado de clorhidrato de amantadina, mesilato de benztropina, clorhidrato de biperideno, lactato de biperideno, mesilato de bromocriptina, carbidopa-levodopa, entacapona, levodopa, mesilato de pergólido, diclorhidrato de pramipexol, clorhidrato de ropinirol, clorhidrato de selegilina, tolcapona, clorhidrato de trihexifenidilo. El al menos un fármaco misceláneo del sistema nervioso central puede ser al menos uno seleccionado de clorhidrato de bupropion, clorhidrato de donepezilo, droperidol, maleato de fluvoxamina, carbonato de litio, citrato de litio, clorhidrato de naratriptano, nicotina polacrilex, sistema transdérmico de nicotina, propofol, benzoato de rizatriptan, clorhidrato del monohidrato de sibutramina, succinato de sumatriptan, clorhidrato de tacrina, zolmitriptan. (Véase, por ejemplo, pp. 337-530 de *Nursing 2001 Drug Handbook*).

El al menos un colinérgico (por ejemplo, parasimpatomimético), puede ser al menos uno seleccionado de cloruro de betanecol, cloruro de

edrofonio, bromuro de neostigmina, metilsulfato de neostigmina, salicilato de fisostigmina, bromuro de piridostigmina. El al menos un anticolinergístico puede ser al menos uno seleccionado de sulfato de atropina, clorhidrato de diciclomina, glicopirrolato, hiosciamina, sulfato de hiosciamina, bromuro de propantelina, escopolamina, butilbromuro de escopolamina, bromhidrato de escopolamina. El al menos un adrenérgico (simpatomimético) puede ser al menos uno seleccionado de clorhidrato de dobutamina, clorhidrato de dopamina, bitartrato de metaraminol, bitartrato de norepinefrina, clorhidrato de fenilefrina, clorhidrato de seudoefedrina, sulfato de seudoefedrina. El al menos un bloqueador adrenérgico (simpatolítico), puede ser al menos uno seleccionado de mesilato de dihidroergotamina, tartrato de ergotamina, maleato de metisérgido, clorhidrato de propranolol. El al menos un relajante del músculo esquelético puede ser al menos uno seleccionado de baclofeno, carisoprodol, clorzoxazona, clorhidrato de ciclobenzaprina, dantroleno sódico, metocarbamol, clorhidrato de tizanidina. El al menos un bloqueador neuromuscular puede ser al menos uno seleccionado de besilato de atracurio, besilato de cisatracurio, cloruro de doxacurio, cloruro de mivacurio, bromuro de pancuronio, bromuro de pipecuronio, bromuro de rapacuronio, bromuro de rocuronio, cloruro de succinilcolina, cloruro de tubocurarina, bromuro de vecuroniuo. (Véase, por ejemplo, pp. 531-84 de *Nursing 2001 Drug Handbook*).

La al menos una antihistamina puede ser al menos una seleccionada de maleato de bromfeniramina, clorhidrato de cetiricina, maleato

de clorfeniramina, fumarato de clemastina, clorhidrato de ciproheptadina, clorhidrato de difenhidramina, clorhidrato de fexofenadina, loratadina, clorhidrato de prometacina, teoclato de prometacina, clorhidrato de triprolidina. El al menos un broncodilatador puede ser al menos uno seleccionado de albuterol, sulfato de albuterol, aminofilina, sulfato de atropina, sulfato de efedrina, epinefrina, bitartrato de epinefina, clorhidrato de epinefrina, bromuro de ipratropio, isoproterenol, clorhidrato de isoproterenol, sulfato de isoproterenol, clorhidrato de levalbuterol, sulfato de metaproterenol, oxtrifilina, acetato de pirbuterol, xinafoato de salmeterol, sulfato de terbutalina, teofilina. El al menos un expectorante o antitusivo puede ser al menos uno seleccionado de benzonatato, fosfato de codeína, sulfato de codeína, bromhidrato de dextrametorfano, clorhidrato de difenhidramina, guaifenesina, clorhidrato de hidromorfona. El al menos un fármaco misceláneo respiratorio puede ser al menos uno seleccionado de acetilcisteína, dipropionato de beclometasona, beractant, budesónido, calfactant, cromolin sódico, dornasa alfa, epoprostenol sódico, flunisolido, propionato de fluticasona, montelukast sódico, nedocromil sódico, palivizumab, acetónido de triamcinolona, zafirlukast, zileutona. (Véase, por ejemplo, pp. 585-642 de *Nursing 2001 Drug Handbook*).

El al menos un antiácido, adsorbente o antiflatulento puede ser al menos uno seleccionado de carbonato de aluminio, hidróxido de aluminio, carbonato de calcio, magaldrato, hidróxido de magnesio, óxido de magnesio, simeticona, bicarbonato de sodio. La al menos una enzima digestiva o

solubilizante de los cálculos biliares pueden ser al menos uno seleccionado de pancreatina, pancrelipasa, ursodiol. El al menos un antidiarreico puede ser al menos uno seleccionado de atapulgita, subsalicilato de bismuto, policarbofilo sódico, clorhidrato de difenoxilato o sulfato de atropina, loperamida, acetato de octreótido, tintura de opio, tintura de opio (canforada). El al menos un laxante puede ser al menos uno seleccionado de bisocodilo, policarbofilo sódico, cáscara sagrada (*Rhamnus purshiana*), extracto líquido aromático de cáscara sagrada, extracto líquido de cáscara sagrada, aceite de ricino, docusato de calcio, docusato sódico, glicerina, lactulosa, citrato de magnesio, hidróxido de magnesio, sulfato de magnesio, metilcelulosa, aceite mineral, polietilenglicol o solución electrolítica, psilio, senna, fosfatos de sodio. El al menos un antiemético puede ser al menos uno seleccionado de clorhidrato de clorpromacina, dimenhidrinato, mesilato de dolasetron, dronabinol, clorhidrato de granisetron, clorhidrato de meclicina, clorhidrato de metoclopramida, clorhidrato de ondansetron, perfenacina, proclorperacina, edisilato de proclorperacina, maleato de proclorperacina, clorhidrato de prometacina, escopolamina, maleato de tietilperacina, clorhidrato de trimetobenzamida. El al menos un fármaco antiúlcera puede ser al menos uno seleccionado de cimetidina, clorhidrato de cimetidina, famotidina, lansoprazol, misoprostol, nizatidina, omeprazol, rabeprozol sódico, citrato de ranitidina de bismuto, clorhidrato de ranitidina, sucralfato. (Véase, por ejemplo, pp. 643-95 de *Nursing 2001 Drug Handbook*). El al menos un corticosteroide puede ser al menos uno seleccionado de betametasona, acetato de betametasona o

fosfato sódico de betametasona, fosfato sódico de betametasona, acetato de cortisona, dexametasona, acetato de dexametasona, dexametasona sódica, fosfato, acetato de fludrocortisona, hidrocortisona, acetato de hidrocortisona, cipionato de hidrocortisona, fosfato de hidrocortisona sódica, succinato de hidrocortisona sódica, metilprednisolona, acetato de metilprednisolona, succinato de metilprednisolona sódica, prednisolona, acetato de prednisolona, fosfato de prednisolona sódica, tebutato de prednisolona, prednisona, triamcinolona, acetónido de triamcinolona, diacetato de triamcinolona. El al menos un andrógeno o esteroide anabólico puede ser al menos uno seleccionado de danazol, fluoximesterona, metiltestosterona, decanoato de nandrolona, fenpropionato de nandrolona, testosterona, cipionato de testosterona, enantato de testosterona, propionato de testosterona, sistema transdérmico de testosterona. El al menos un estrógeno o progestina puede ser al menos uno seleccionado de estrógenos esterificados, estradiol, cipionato de estradiol, estradiol/sistema transdérmico de acetato de noretindrona, valerato de estradiol, estrógenos (conjugados), estropipato, etinil estradiol, etinil estradiol y desogestrel, etinil estradiol y diacetato de etinodiol, etinil estradiol y desogestrel, etinil estradiol y diacetato de etinodiol, etinil estradiol y levonorgestrel, etinil estradiol y noretindrona, etinil estradiol y acetato de noretindrona, etinil estradiol y norgestimato, etinil estradiol y norgestrel, etinil estradiol y noretindrona y acetato y fumarato ferroso, levonorgestrel, acetato de medroxiprogesterona, mestranol y noretindrona, noretindrona, acetato de noretindrona, norgestrel, progesterona. La al menos

una gonadroptropina puede ser al menos una seleccionada de acetato de ganirelix, acetato de gonadorelina, acetato de histrelina, menotropinas. El al menos un antidiabético o glucagon puede ser al menos uno seleccionado de acarbosa, clorpropamida, glimepirida, glipizida, glucagon, gliburida, insulinas, clorhidrato de metformina, miglitol, clorhidrato de pioglitazona, repaglinida, maleato de rosiglitazona, troglitazona. La al menos una hormona tiroidea puede ser al menos una seleccionada de levotiroxina sódica, liotironina sódica, liotrix, tiroidea. El al menos un antagonista de la hormona tiroidea puede ser al menos uno seleccionado de metimazol, yoduro de potasio, yoduro de potasio (solución saturada), propiltiouracilo, yodo radiactivo (yoduro de sodio I^{311}), solución fuerte de yodo. La al menos una hormona de la hipófisis puede ser al menos una seleccionada de corticotropina, cosintropina, acetato de desmofresina, acetato de leuprólido, corticotropina repositoria, somatrem, somatropina, vasopresina. El al menos un fármaco similar a la paratiroides, puede ser al menos uno seleccionado de calcifediol, calcitonina (humana), calcitonina (salmón), calcitriol, dihidrotaquisterol, etidronato disódico. (Véase, por ejemplo, pp. 696-796 de *Nursing 2001 Drug Handbook*).

El al menos un diurético puede ser al menos uno seleccionado de acetazolamida, acetazolamida sódica, clorhidrato de amilorida, bumetanida, clortalidona, etacrinato sódico, ácido etacrínico, furosemida, hidroclorotiazida, indapamida, manitol, metolazona, espironolactona, torsemida, triamtereno, urea. El al menos un electrolito o solución de reemplazo puede ser al menos uno seleccionado de acetato de calcio,

carbonato de calcio, cloruro de calcio, citrato de calcio, glubionato de calcio, gluceptato de calcio, gluconato de calcio, lactato de calcio, fosfato de calcio (dibásico), fosfato de calcio (tribásico), dextrano (alto peso molecular), dextrano (bajo peso molecular), hetaalmidón, cloruro de magnesio, sulfato de magnesio, acetato de potasio, bicarbonato de potasio, cloruro de potasio, gluconato de potasio, inyección de Ringer, inyección de Ringer (lactada), cloruro de sodio. El al menos un acidificante o alcalinizante puede ser al menos uno seleccionado de bicarbonato de sodio, lactato de sodio, trometamina. (Véase, por ejemplo, pp. 797-833 de *Nursing 2001 Drug Handbook*).

El al menos un hematínico puede ser al menos uno seleccionado de fumarato ferroso, gluconato ferroso, sulfato ferroso, sulfato ferroso (seco), dextrano de hierro, sorbitol de hierro, complejo de polisacárido-hierro, complejo de sodio-gluconato férrico. El al menos un anticoagulante puede ser al menos uno seleccionado de ardeparina sódica, dalteparina sódica, danaparoide sódico, enoxaparina sódica, heparina de calcio, heparina sódica, warfarina sódica. El al menos un derivado sanguíneo puede ser al menos uno seleccionado de albúmina al 5%, albúmina al 25%, factor antihemofílico, complejo antiinhibidor-coagulante, antitrombina III (humana), factor IX (humano), complejo del factor IX, fracciones de proteína del plasma. La al menos una enzima trombolítica puede ser al menos una seleccionada de alteplasa, anistreplasa, reteplasa (recombinante), estreptocinasa, urocinasa. (Véase, por ejemplo, pp. 834-66 de *Nursing 2001 Drug Handbook*).

El al menos un fármaco alquilante puede ser al menos uno seleccionado de busulfano, carboplatina, carmustina, clorambucilo, cisplatina, ciclofosfamida, ifosfamida, lomustina, clorhidrato de mecloretamina, melfalano, clorhidrato de melfalano, estreptozocina, temozolomida, tiotepa. El al menos un antimetabolito puede ser al menos uno seleccionado de capecitabina, cladribina, citarabina, floxuridina, fosfato de fludarabina, fluorouracilo, hidroxiurea, mercaptopurina, metotrexato, metotrexato sódico, tioguanina. El al menos un antibiótico antineoplásico puede ser al menos uno seleccionado de sulfato de bleomicina, dactinomicina, citrato de daunorrubicina liposomal, clorhidrato de daunorrubicina, clorhidrato de doxorrubicina, clorhidrato de doxorrubicina liposomal, clorhidrato de epirrubicina, clorhidrato de idarrubicina, mitomicina, pentostatina, plicamicina, valrubicina. El al menos un antineoplásico que altera el equilibrio hormonal puede ser al menos uno seleccionado de anastrozol, bicalutamida, fosfato de estramustina sódica, exemestano, flutamida, acetato de goserelina, letrozol, acetato de leuprólido, acetato de megestrol, nilutamida, citrato de tamoxifeno, testolactona, citrato de toremifeno. El al menos un antineoplásico misceláneo puede ser al menos uno seleccionado de asparaginasa, bacilos de Calmette-Guerin (BCG) (vivos intravesicales), dacarbacina, docetaxel, etopósido, fosfato de etopósido, clorhidrato de gemcitabina, clorhidrato de irinotecano, mitotano, clorhidrato de mitoxantrona, paclitaxel, pegaspargasa, porfímero sódico, clorhidrato de procarbacina, rituximab, tenipósido, clorhidrato de topotecano, trastuzumab,

tretinoína, sulfato de vinblastina, sulfato de vincristina, tartrato de vinorelbina. (Véase, por ejemplo, pp. 867-963 de *Nursing 2001 Drug Handbook*).

El al menos un inmunosupresor puede ser al menos uno seleccionado de azatioprina, basiliximab, ciclosporina, daclizumab, globulina inmune al linfocito, muromonab-CD3, micofenolato de mofetilo, clorhidrato del micofenolato de mofetilo, sirólimo, tacrólimo. La al menos una vacuna o toxoide puede ser al menos una seleccionada de la vacuna BCG, vacuna del cólera, toxoides diftéricos y tetánicos (adsorbidos), toxoides diftéricos y tetánicos y vacuna para la tos ferina acelular adsorbidos, toxoides diftéricos y tetánicos y vacuna para la tos ferina de célula completa, vacunas del conjugado b de Haemophilius b, vacuna para la hepatitis A (inactivada), vacunas para la hepatitis B (recombinante), vacuna para el virus de la influenza trivalente 1999-2000 de los tipos A y B (antígeno superficial purificado), vacuna para el virus de la influenza trivalente 1999-2000 de los tipos A y B (subvirión o subvirión purificado), vacuna para el virus de la influenza trivalente 1999-2000 tipos A y B (virón completo), vacuna para el virus de la encefalitis Japonesa (inactivada), vacuna para la enfermedad de Lyme (OspA recombinante), vacuna para el virus del sarampión y paperas y rubéola (viva), vacuna para el virus del sarampión y paperas y rubéola (viva atenuada), vacuna para el virus del sarampión (viva atenuada), vacuna de polisacárido para meningococos, vacuna para el virus de las paperas (viva), vacuna para la plaga, vacuna para neumococos (polivalente), vacuna para el poliovirus (inactivada), vacuna para poliovirus (viva, oral, trivalente), vacuna

para la rabia (adsorbida), vacuna para la rabia (células diploides humanas), vacuna para el virus de la rubéola y las paperas (viva), vacuna para el virus de la rubéola (viva, atenuada), toxoide tetánico (adsorbido), toxoide tetánico (fluido), vacuna para la tifoidea (oral), vacuna para la tifoidea (parenteral), vacuna de polisacárido para la tifoidea VI, vacuna para el virus de la varicela, vacuna para la fiebre amarilla. La al menos una antitoxina o antiveneno puede ser al menos uno seleccionado del antiveneno de la araña viuda negra, en antiveneno para Crótalos (polivalente), antitoxina diftérica (equina), antiveneno *Micrurus fulvius*). El al menos un suero inmune puede ser al menos uno seleccionado de la globulina inmune al citomegalovirus (intravenosa), la globulina inmune de la hepatitis B (humana), globulina inmune intramuscular, globulina inmune intravenosa, globulina inmune de la rabia (humana), globulina intravenosa inmune al virus sincitial respiratorio (humana), globulina inmune a $Rh_o(D)$ (humana), globulina intravenosa inmune a $Rh_o(D)$ (humana), globulina inmune al tétanos (humana), globulina inmune a la varicela zoster. El al menos un modificador de la respuesta biológica puede ser al menos uno seleccionado de aldesleucina, epoyetina alfa, filgrastim, acetato de glatirámero para la inyección, interferón alfacon-1, interferón alfa-2a (recombinante), interferón alfa-2b (recombinante), interferón beta-1a, interferón beta-1b (recombinante), interferón gamma-1b, clorhidrato de levamisol, oprelvequina, sargramostim. (Véase, por ejemplo, pp. 964-1040 de *Nursing 2001 Drug Handbook*).

El al menos un antiinfeccioso oftálmico puede seleccionarse de bacitracina, cloranfenicol, clorhidrato de ciprofloxacina, eritromicina, sulfato de gentamicina, ofloxacina al 0.3%, sulfato de polimixina B, sulfacetamida sódica al 10%, sulfacetamida sódica al 15%, sulfacetamida sódica al 30%, tobramicina, vidarabina. El al menos un antiinflamatorio oftálmico puede ser al menos uno seleccionado de dexametasona, fosfato de dexametasona sódica, diclofenaco sódico al 0.1%, fluorometolona, flurbiprofen sódico, cetorolaco, trometamina, acetato de prednisolona (suspensión), fosfato de prednisolona sódica (solución). El al menos un miótico puede ser al menos uno seleccionado de cloruro de acetilocolina, carbacol (intraocular), carbacol (tópico), yoduro de ecotiofato, pilocarpina, clorhidrato de pilocarpina, nitrato de pilocarpina. El al menos un midriático puede ser al menos uno seleccionado de sulfato de atropina, clorhidrato de ciclopentolato, clorhidrato de epinefrina, borato de epinefrilo, bromhidrato de homatropina, clorhidrato de fenilefrina, bromhidrato de escopolamina, tropicamida. El al menos un vasoconstrictor oftálmico puede ser al menos uno seleccionado de clorhidrato de nafazolina, clorhidrato de oximetazolina, clorhidrato de tetrahidrozolina. El al menos un oftálmico misceláneo puede ser al menos uno seleccionado de clorhidrato de apraclonidina, clorhidrato de betaxolol, tartrato de brimonidina, clorhidrato de carteolol, clorhidrato de dipivefrina, clorhidrato de dorzolamida, difumarato de emedastina, fluoresceína sódica, fumarato de quetotifeno, latanoprost, clorhidrato de levobunolol, clorhidrato de metipranolol, cloruro de sodio (hipertónico), maleato de timolol. El al menos un ótico puede ser al menos

uno seleccionado de ácido bórico, peróxido de carbamida, cloranfenicol, condensado del oleato del polipéptido de trietanolamina. El al menos un fármaco nasal puede ser al menos uno seleccionado de dipropionato de beclometasona, budesonido, sulfato de efedrina, clorhidrato de epinefrina, flunisolida, propionato de fluticasona, clorhidrato de nafazolina, clorhidrato de oximetazolina, clorhidrato de fenilefrina, clorhidrato de tetrahidrozolina, acetónido de triamcinolona, clorhidrato de xilometazolina. (Véase, por ejemplo, pp. 1041-97 de *Nursing 2001 Drug Handbook*).

El al menos un antiinfeccioso local puede ser al menos uno seleccionado de aciclovir, anfotericina B, crema del ácido azelaico, bacitracina, nitrato de butoconazol, fosfato de clindamicina, clotrimazol, nitrato de econazol, eritromicina, sulfato de gentamicina, quetoconazol, acetato de mafenida, metronidazol (tópico), nitrato de miconazol, mupirocina, clorhidrato de naftifina, sulfato de neomicina, nitrofurazona, nistatina, sulfadiacina de plata, clorhidrato de terbinafina, terconazol, clorhidrato de tetraciclina, tioconazol, tolnaftato. El al menos un escabicida o pediculicida puede ser al menos uno seleccionado de crotamiton, lindano, permetrina, piretrinas. El al menos un corticosteroide tópico puede ser al menos uno seleccionado de dipropionato de betametasona, valerato de betametasona, propionato de clobetasol, desónido, desoximetasona, dexametasona, fosfato de dexametasona sódico, diacetato de diflorasona, acetónido de fluocinolona, fluocinónido, flurandrenólido, propionato de fluticasona, halcionida, hidrocortisona, acetato de hidrocortisona, butirato de hidrocortisona, valerato

de hidrocortisona, furoato de mometasona, acetónido de triamcinolona. (Véase, por ejemplo, pp. 1098-1136 de *Nursing 2001 Drug Handbook*).

La al menos una vitamina o mineral puede ser al menos uno seleccionado de vitamina A, complejo de vitamina B, cianocobalamina, ácido fólico, hidroxocobalamina, leucovorina de calcio, niacina, niacinamida, clorhidrato de piridoxina, riboflavina, clorhidrato de tiamina, vitamina C, vitamina D, colecalciferol, ergocalciferol, análogo de la vitamina D, doxercalciferol, paricalcitol, vitamina E, análogo de la vitamina K, fitonadiona, fluoruro de sodio, fluoruro de sodio (tópico), elementos en trazas, cromo, cobre, yodo, manganeso, selenio, zinc. El al menos un calórico puede ser al menos uno seleccionado de infusiones de aminoácidos (cristalinas), infusiones de aminoácidos en dextrosa, infusiones de aminoácidos con electrolitos, infusiones de aminoácidos con electrolitos en dextrosa, infusiones de aminoácidos para la falla hepática, infusiones de aminoácidos para alta tensión metabólica, infusiones de aminoácidos para falla renal, dextrosa, emulsiones grasas, triglicéridos de cadena media. (Véase, por ejemplo, pp. 1137-63 de *Nursing 2001 Drug Handbook*).

Las composiciones de anticuerpo o polipéptido del mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO de la presente invención puede comprender además al menos cualquier cantidad adecuada y/o efectiva de una composición o composición farmacéutica que comprende al menos una proteína o anticuerpo del mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO a una célula, tejido, órgano, animal o paciente en

necesidad de tal modulación, tratamiento o terapia, opcionalmente comprende además al menos uno seleccionado de al menos un antagonista del TNF (por ejemplo, de manera no exclusiva, un antagonista químico de la proteína del TNF, un anticuerpo o fragmento monoclonal o policlonal del TNF, un receptor soluble del TNF (por ejemplo, p55, p70 o p85) o un fragmento, polipéptidos de fusión de los mismos, o un antagonista del TNF de molécula pequeña, por ejemplo, proteína I o II que se une al TNF (TBP-1 o TBP-II nerelimonmab, infliximab, enteracept, CDP-571, CDP-870, afelimomab, lenercept y lo similar), un antirreumático (por ejemplo, metotrexato, auranofina, aurotioglucosa, azatioprina, etanercept, tiomalato de oro sódico, sulfato de hidroxicloroquina, leflunomida, sulfasalcina), un relajante muscular, un narcótico, un fármaco inflamatorio no esteroidal (NSAID), un analgésico, un anestésico, un sedante, un anestésico local, un bloqueador neuromuscular, un antimicrobiano (por ejemplo, aminoglucósido, un antimicótico, un antiparasitario, un antiviral, un carbapenem, cefalosporina, una flurorquinolona, un macrólido, una penicilina, una sulfonamida, una tetraciclina, otros antimicrobianos), un antisoriático, un corticosteroide, un esteroide anabólico, un agente relacionado con la diabetes, un mineral, un nutriente, un agente tiroideo, una vitamina, una hormona relacionada con el calcio, un antidiarreico, un antitusivo, un antiemético, un antiúlcera, un laxante, un anticoagulante, una eritropoyetina (por ejemplo, epoyetina alfa), un filgrastim (por ejemplo, G-CSF, Neupogen), un sargramostim (GM-CSF, Leucina), una inmunización, una inmunoglobulina, un inmunosupresor (por ejemplo, basiliximab, ciclosporina, daclizumab), una

hormona del crecimiento, un fármaco para el reemplazo hormonal, un modulador del receptor del estrógeno, un midriático, un cicloplégico, un agente alquilante, un antimetabolito, un inhibidor mitótico, un radiofarmacéutico, un antidepresivo, un agente antimaniaco, un antisicótico, un ansiolítico, un hipnótico, un simpatomimético, un estimulante, donepezil, tacrina, una medicación para el asma, un agonista beta, un esteroide inhalado, un inhibidor de leucotrieno, una metilxantina, una cromolina, una epinefrina o análogo, dornasa alfa (Pulmozyme), una citocina o un antagonista de la citocina. Los ejemplos no limitantes de tales citocinas incluyen, de manera no exclusiva, cualquiera de IL-1 a IL-23. Las dosificaciones adecuadas son bien conocidas en la técnica. Véase, por ejemplo, Wells et al., eds., Pharmacotherapy Handbook, 2ª Edición, Appleton y Lange, Stamford, CT (2000); PDR Pharmacopoeia, Tarascon Pocket Pharmacopoeia 2000, Deluxe Edition, Tarascon Publishing, Loma Linda, CA (2000), cada una de las referencias se incorpora completamente en la presente como referencia.

Tales composiciones también pueden incluir moléculas de toxina que están asociadas, unidas, coformuladas o coadministradas con al menos un anticuerpo o polipéptido de la presente invención. La toxina puede actuar opcionalmente para destruir selectivamente la célula o el tejido patológico. La célula patológica puede ser una célula cancerosa u otra célula. Tales toxinas pueden ser, de manera no exclusiva, una toxina purificada o recombinante o un fragmento de toxina que comprende al menos un dominio citotóxico funcional de la toxina, por ejemplo, seleccionado de al menos uno de ricino,

toxina diftérica, toxina de veneno, o una toxina bacteriana. El término toxina también incluye tanto las endotoxinas como las exotoxinas producidas por cualquier bacteria o virus mutante o recombinante natural, que puede causar cualquier condición patológica en humanos y otros mamíferos, incluyendo choque por toxina, el cual puede resultar en la muerte. Tales toxinas pueden incluir, de manera no exclusiva, la enterotoxina lábil con el calor de E. coli enterotoxigénica (LT), enterotoxina estable con el calor (ST), citotoxina de *Shigella*, enterotoxinas de *Aeromonas*, toxina 1 del síndrome de choque tóxico (TSST-1), enterotoxina A de Estafilococos (SEA), B (SEB) o C (SEC), enterotoxinas de Estreptococos y lo similar. Tales bacterias incluyen, de manera no exclusiva, cepas de especies de E. coli enterotoxigénicas (ETEC), E. coli enterohemorrágica (por ejemplo, cepas del serotipo 0157:H7), especies de Estafilococos (por ejemplo, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus pyogenes*), especies de *Shigella* (por ejemplo, *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, *Sliigella boydii*, y *Shigella sonnei*), especies de Salmonela (por ejemplo, *Salmonella typhi*, *Salmonella cholera-suis*, *Salmonella enteritidis*), especies de *Clostridium* (por ejemplo, *Clostridium perfringens*, *Clostridium dificile*, *Clostridium botulinum*), especies de *Camphlobacter* (por ejemplo, *Camphlobacter jejuni*, *Camphlobacter fetus*), especies de *Heliobacter* (por ejemplo, *Heliobacter pylori*), especies de *Aeromonas* (por ejemplo, *Aeromonas sobria*, *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas caviae*), *Pleisomonas shigelloides*, *Yersina enterocolitica*, especies de *Vibrios* (por ejemplo, *Vibrios cholerae*, *Vibrios parahenaolyticus*), especies de *Klebsiella*, *Pseudomonas aeruginosa* y

Streptococci. Véase, por ejemplo, Stein, ed., INTERNAL MEDICINE, 3a ed., pp 1-13, Little, Brown and Co., Boston, (1990); Evans et al., eds., Bacterial Infections of Humans: Epidemiology and Control, 2a. Ed., pp 239-254, Plenum Medical Book Co., New York (1991); Mandell et al, Principles and Practice of Infectious Diseases, 3a. Ed., Churchill Livingstone, New York (1990); Berkow et al, eds., The Merck Manual, 16a edición, Merck and Co., Rahway, N. J., 1992; Wood et al, FEMS Microbiology Immunology, 76:121-134 (1991); Marrack et al, Science, 248:705-711 (1990), el contenido de las referencias se incorpora completamente en la presente como referencia.

Las composiciones del mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada de la presente invención, pueden comprender además al menos uno de cualquier auxiliar adecuado, tal como, de manera no exclusiva, un diluyente, aglutinante, estabilizante, amortiguadores, sales, solventes lipofílicos, conservadores, ayudantes o lo similar. Los auxiliares farmacéuticamente aceptables se prefieren. Los ejemplos no limitantes de, y los métodos para preparar tales soluciones estériles son bien conocidos en la técnica, tales como, de manera no exclusiva, Gennaro, Ed., Remington's Pharmaceutical Sciences, 18à Edición, Mack Publishing Co. (Easton, PA) 1990. Los portadores farmacéuticamente aceptables pueden seleccionarse de manera rutinaria que sean adecuados para el modo de administración, solubilidad y/o estabilidad de la composición del mimeticuerpo central de la región de

bisagra, mimético de la EPO, como es bien conocido en la técnica o como se describe en la presente.

Los excipientes y aditivos farmacéuticos útiles en la presente composición incluyen, de manera no exclusiva, proteínas, péptidos, aminoácidos, lípidos y carbohidratos (por ejemplo, azúcares, incluyendo monosacáridos, di, tri, tetra y oligosacáridos; azúcares derivados tales como alditoles, ácidos aldónicos, azúcares esterificados y lo similar; y polisacáridos o polímeros de azúcar), que pueden estar presentes de manera única o en combinación, que comprenden solos o en combinación 1-99.99% en peso o volumen. Los excipientes de proteína ejemplares incluyen seroalbúmina tal como seroalbúmina humana (HSA), albúmina humana recombinante (rHA), gelatina, caseína y lo similar. Los componentes representativos del aminoácido/mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada, que también funcionan en una capacidad amortiguadora, incluyen alanina, glicina, arginina, betaína, histidina, ácido glutámico, ácido aspártico, cisteína, lisina, leucina, isoleucina, valina, metionina, fenilalanina, aspartame y lo similar. Otro aminoácido preferido es la glicina.

Los excipientes de carbohidratos adecuados para utilizarse en la invención incluyen, por ejemplo, monosacáridos tales como fructosa, maltosa, galactosa, glucosa, D-manosa, sorbosa y lo similar; disacáridos, tales como lactosa, sucrosa, trehalosa, celobiosa y lo similar; polisacáridos, tales como rafinosa, melezitosa, maltodextrinas, dextranos, almidones y lo similar; y

alditoles, tales como manitol, xilitol, maltitol, lactitol, xilitol sorbitol (glucitol), mioinositol y lo similar. Los excipientes de carbohidrato preferidos para utilizarse en la presente invención son manitol, trehalosa y rafinosa.

Las composiciones de mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO también pueden incluir un amortiguador o un agente que ajuste el pH; típicamente, el amortiguador es una sal preparada de un ácido o base orgánica. Los amortiguadores representativos incluyen sales de ácido orgánico tales como sales de ácido cítrico, ácido ascórbico, ácido glucónico, ácido carbónico, ácido tartárico, ácido succínico, ácido acético o ácido ftálico; Tris, clorhidrato de trometamina o amortiguadores de fosfato. Los amortiguadores preferidos para utilizarse en las presentes composiciones son sales de ácido orgánico tales como citrato.

Adicionalmente, las composiciones del mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada de la invención, pueden incluir excipientes/aditivos poliméricos tales como polivinilpirrolidonas, ficoles (un azúcar polimérico), dextratos (por ejemplo, ciclodextrinas, tales como 2-hidroxipropil-β-ciclodextrina), polietilenglicoles, agentes saborizantes, agentes antimicrobianos, edulcorantes, antioxidantes, agentes antiestáticos, tensioactivos (por ejemplo, polisorbatos tales como "TWEEN 20" y "TWEEN 80"), lípidos (por ejemplo, fosfolípidos, ácidos grasos,), esteroides (por ejemplo, colesterol), y agentes quelantes (por ejemplo, EDTA).

Estos y los excipientes y/o aditivos farmacéuticos conocidos adicionales adecuados para utilizarse en las composiciones de mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO de acuerdo con la invención, son conocidos en la técnica, por ejemplo, como se lista en "Remington: The Science & Practice of Pharmacy", 19ª ed., Williams & Williams, (1995), y en "Physician's Desk Reference", 52ª ed., Medical Economics, Montvale, NJ (1998), las descripciones de los cuales se incorporan completamente en la presente como referencia. Los materiales portadores o excipientes preferidos son carbohidratos (por ejemplo, sacáridos y alditoles) y amortiguadores (por ejemplo, citrato) o agentes poliméricos.

Formulaciones

Como se indicó anteriormente, la invención proporciona formulaciones estables, las cuales, de manera preferida, incluyen un amortiguador adecuado con suero fisiológico o una sal elegida, así como soluciones y formulaciones conservadas opcionales, que contienen un conservador, así como formulaciones conservadas para múltiples usos adecuadas para uso farmacéutico o veterinario, que comprenden al menos un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada en una formulación farmacéuticamente aceptable. Las formulaciones conservadas contienen al menos un conservador conocido o seleccionado opcionalmente del grupo que consiste de al menos un fenol, m-cresol, p-cresol, o-cresol, clorocresol, alcohol

bencílico, nitrito fenilmercúrico, fenoxietanol, formaldehído, clorobutanol, cloruro de magnesio (por ejemplo, hexahidrato), alquilparabeno (metilo, etilo, propilo, butilo y lo similar), cloruro de benzalconio, cloruro de benzetonio, deshidroacetato de sodio y timerosal, o mezclas de los mismos en un diluyente acuoso. Cualquier concentración adecuada puede utilizarse como se conoce en la técnica, tal como 0.001-5%, o cualquier intervalo o valor en el mismo, tal como, de manera no exclusiva 0.001, 0.003, 0.005, 0.009, 0.01, 0.02, 0.03, 0.05, 0.09, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1.0, 1.1, 1.2, 1.3, 1.4, 1.5, 1.6, 1.7, 1.8, 1.9, 2.0, 2.1, 2.2, 2.3, 2.4, 2.5, 2.6, 2.7, 2.8, 2.9, 3.0, 3.1, 3.2, 3.3, 3.4, 3.5, 3.6, 3.7, 3.8, 3.9, 4.0, 4.3, 4.5, 4.6, 4.7, 4.8, 4.9 o cualquier intervalo o valor en el mismo. Los ejemplos no limitantes incluyen, sin conservador, 0.1-2% de m-cresol (por ejemplo, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.9, 1.0%), 0.1-3% de alcohol bencílico (por ejemplo, 0.5, 0.9, 1.1, 1.5, 1.9, 2.0, 2.5%), 0.001-0.5% de timerosal (por ejemplo, 0.005, 0.01), 0.001-2.0% de fenol (por ejemplo, 0.05, 0.25, 0.28, 0.5, 0.9, 1.0%), 0.0005-1.0% de alquilparabenos (por ejemplo, 0.00075, 0.0009, 0.001, 0.002, 0.005, 0.0075, 0.009, 0.01, 0.02, 0.05, 0.075, 0.09, 0.1, 0.2, 0.3, 0.5, 0.75, 0.9, 1.0%) y lo similar.

Como se indicó anteriormente, la invención proporciona un artículo de fabricación, que comprende empacar un material y al menos un vial que comprende una solución de al menos un menos un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada, con los amortiguadores y/o conservadores prescritos,

opcionalmente en un diluyente acuoso, en donde el material de empaque comprende una etiqueta que indica que tal solución puede mantenerse durante un periodo de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 9, 12, 18, 20, y 24, 30, 36, 40, 48, 54, 60, 66, 72 horas o mayor. La invención comprende además un artículo de fabricación, que comprende un material de empaque, un primer vial que comprende al menos un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO liofilizado o una porción o variante especificada, y un segundo vial que comprende un diluyente acuoso de un amortiguador o conservador prescrito, en donde el material de empaque comprende una etiqueta que indica al paciente reconstituir el al menos un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada en el diluyente acuoso, para formar una solución que puede mantenerse durante un periodo de veinticuatro horas o mayor.

El al menos un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada utilizado de acuerdo con la presente invención, puede producirse por medios recombinantes, incluyendo preparaciones de células de mamífero o transgénicas, o puede purificarse de otras fuentes biológicas, como se describe en la presente o como se conoce en la técnica.

El intervalo de las cantidades de al menos un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada en el producto de la presente invención, incluye cantidades que proporcionen tras la reconstitución, si es un sistema húmedo/seco,

concentraciones de aproximadamente 1.0 µg/ml a aproximadamente 1000 mg/ml, aunque son operables concentraciones más bajas y más altas y son dependientes del vehículo de suministro pretendido, por ejemplo, las formulaciones en solución diferirán de los métodos de parche transdérmico, pulmonar, transmucosa u osmótico o de microbomba.

De manera preferida, el diluyente acuoso comprende opcionalmente, además, un conservador farmacéuticamente aceptable. Los conservadores preferidos incluyen aquéllos seleccionados del grupo que consiste de fenol, m-cresol, p-cresol, o-cresol, clorocresol, alcohol bencílico, alquilparabeno (metilo, etilo, propilo, butilo y lo similar), cloruro de benzalconio, cloruro de bencetonio, deshidroacetato de sodio y timerosal, o mezclas de los mismos. La concentración del conservador utilizado en la formulación es una concentración suficiente para proporcionar un efecto antimicrobiano. Tales concentraciones son dependientes del conservador seleccionado y son determinadas fácilmente por el experto.

Otros excipientes, por ejemplo, agentes para la isotonicidad, amortiguadores, antioxidantes, mejoradores del conservador, pueden agregarse opcionalmente y de manera preferida al diluyente. Un agente para la isotonicidad, tal como glicerina, se utiliza comúnmente a concentraciones conocidas. Un amortiguador tolerado fisiológicamente se agrega de manera preferida para proporcionar un control mejorado del pH. Las formulaciones pueden cubrir un amplio intervalo de pH, tal como de aproximadamente pH 4 a aproximadamente pH 10, y el preferido varía de aproximadamente pH 5 a

aproximadamente pH 9, y uno más preferido varía de aproximadamente 6.0 a aproximadamente 8.0. De manera preferida, las formulaciones de la presente invención tienen un pH entre aproximadamente 6.8 y aproximadamente 7.8. Los amortiguadores preferidos incluyen amortiguadores de fosfato, de manera más preferida, fosfato de sodio, particularmente suero fisiológico amortiguado con fosfato (PBS).

Otros aditivos, tales como solubilizantes farmacéuticamente aceptables como Tween 20 (monolaurato de polioxietilen (20) sorbitan), Tween 40 (monopalmitato de polioxietilen (20) sorbitan), Tween 80 (monooleato de polioxietilen (20) sorbitan), Pluronic F68 (copolímeros de bloque de polioxietileno-polioxipropileno), y PEG (polietielenglicol) o tensioactivos no iónicos tales como polisorbato 20 u 80 o poloxámero 184 ó 188, polioles Pluronic®, otros copolímeros de bloque, y quelantes tales como EDTA y EGTA pueden agregarse opcionalmente a las formulaciones o composiciones para reducir la agregación. Estos aditivos son particularmente útiles si se utiliza una bomba o un recipiente de plástico para administrar la formulación. La presencia de un tensioactivo farmacéuticamente aceptable mitiga la propensión a agregarse de la proteína.

Las formulaciones de la presente invención pueden prepararse mediante un procedimiento que comprende mezclar al menos un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada y un conservador seleccionado del grupo que consiste de fenol, m-cresol, p-cresol, o-cresol, clorocresol, alcohol bencílico,

alquilparabeno (metilo, etilo, propilo, butilo y lo similar), cloruro de banzalconio, cloruro de bencetonio, deshidroacetato de sodio y timerosal o mezclas de los mismos en un diluyente acuoso. El mezclado de al menos un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada y un conservador en un diluyente acuoso se lleva a cabo utilizando procedimientos convencionales de disolución y mezclado. Para preparar una formulación adecuada, por ejemplo, una cantidad medida de al menos un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada en una solución amortiguada, se combina con el conservador deseado en una solución amortiguada en cantidades suficientes para proporcionar la proteína y el conservador a las concentraciones deseadas. Las variaciones de este procedimiento se reconocerán por alguien con experiencia ordinaria en la técnica. Por ejemplo, el orden en que se agregan los componentes, si se utilizan aditivos adicionales, la temperatura y el pH al cual se prepara la formulación, son todos factores que pueden optimizarse para la concentración y los medios de administración utilizados.

Las formulaciones reclamadas pueden proporcionarse a los pacientes como soluciones transparentes o como viales dobles que comprenden un vial de al menos un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO liofilizado o una porción o variante especificada que se reconstituye con un segundo vial que contiene agua, un conservador y/o excipientes, de manera preferida, un amortiguador de fosfato y/o suero

fisiológico y una sal elegida, en un diluyente acuoso. Un solo vial con la solución o un vial dual que requiera la reconstitución, pueden reutilizarse múltiples veces y pueden ser suficientes para un solo ciclo o para múltiples ciclos del tratamiento del paciente, y puede proporcionar así un régimen de tratamiento más conveniente que los actualmente disponibles.

Los artículos de fabricación reclamados presentes son útiles para la administración durante un periodo de inmediatamente a veinticuatro horas o mayor. En consecuencia, los artículos de fabricación reclamados presentes, ofrecen ventajas significativas al paciente. Las formulaciones de la invención pueden almacenarse opcionalmente y de manera segura a temperaturas de la ambiental a aproximadamente 2 a aproximadamente 40°C y mantienen su actividad biológica de la proteína durante periodos extendidos de tiempo, permitiendo así una etiqueta en el empaque que indique que la solución puede mantenerse y/o utilizarse durante un periodo de 6, 12, 18, 24, 36, 48, 72 ó 96 horas o mayor. Si se utiliza el diluyente conservado, tal etiqueta puede incluir el uso hasta al menos uno de 1-12 meses, medio año, uno y medio y/o dos años.

Las soluciones de al menos un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada en la invención, pueden prepararse mediante un procedimiento que comprende mezclar al menos un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada en un diluyente acuoso. El mezclado se lleva a cabo utilizando procedimientos convencionales de

disolución y mezclado. Para preparar un diluyente adecuado, por ejemplo, una cantidad medida de al menos un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada en agua o amortiguador, se combina en cantidades suficientes para proporcionar la proteína y opcionalmente un conservador o amortiguador a las concentraciones deseadas. Las variaciones de este procedimiento serán reconocidas por alguien con experiencia ordinaria en la técnica. Por ejemplo, el orden en que se agregan los componentes, si se utilizan aditivos adicionales, la temperatura y el pH al cual se prepara la formulación, son todos factores que pueden optimizarse para la concentración y los medios de administración utilizados.

Los productos reclamados pueden proporcionarse a los pacientes como soluciones transparentes o como viales dobles que comprenden un vial de al menos un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO liofilizado o una porción o variante especificada que se reconstituye con un segundo vial que contiene el diluyente acuoso. Un solo vial con la solución o un vial dual que requiera la reconstitución, pueden reutilizarse múltiples veces y pueden ser suficientes para un solo ciclo o para múltiples ciclos del tratamiento del paciente, y puede proporcionar así un régimen de tratamiento más conveniente que los actualmente disponibles.

Los productos reclamaos pueden proporcionarse de manera indirecta a los pacientes proporcionando a las farmacias, clínicas u otras de tales instituciones e instalaciones, soluciones transparentes o viales dobles

que comprendan al menos un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO liofilizado o una porción o variante especificada que se reconstituya con un segundo vial que contenga el diluyente acuoso. La solución transparente en este caso puede se de hasta un litro o incluso de tamaño mayor, proporcionando un gran depósito del cual pueden recuperarse porciones más pequeñas de la solución del al menos un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada, una o múltiples veces, para transferirlas a viales más pequeños y proporcionarse por la farmacia o clínica a sus clientes y/o pacientes.

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

Los productos reclamados presentes incluyen un material de empaque. El material de empaque proporcionar, además de la información requerida por las agencias regulatorias, las condiciones bajo las cuales puede utilizarse el producto. El material de empaque de la presente invención proporciona instrucciones al paciente para reconstituir el al menos un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada en el diluyente acuoso para formar una

solución y utilizar la solución durante un periodo de 2-24 horas o mayor para el producto de dos viales, húmedo/seco. Para un solo vial, el producto en solución, la etiqueta indica que tal solución puede utilizarse durante un periodo de 2-24 horas o mayor. Los productos reclamados presentes son útiles para uso farmacéutico del producto en humanos.

Las formulaciones de la presente invención pueden prepararse mediante un proceso que comprende mezclar al menos un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada y un amortiguador seleccionado, de manera preferida un amortiguador de fosfato que contenga suero fisiológico o una sal elegida. El mezclado de al menos un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada y el amortiguador en diluyente acuoso, se lleva a cabo utilizando procedimientos convencionales de disolución y mezclado. Para preparar una formulación adecuada, por ejemplo, una cantidad medida de al menos un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada en agua o amortiguador, se combina con el agente amortiguante deseado en agua, en cantidades suficientes para proporcionar la proteína y el amortiguador en las concentraciones deseadas. Las variaciones de este procedimiento serán reconocidas por alguien con experiencia ordinaria en la técnica. Por ejemplo, el orden en que se agregan los componentes, si se utilizan aditivos adicionales, la temperatura y el pH al cual se prepara la

formulación, son todos factores que pueden optimizarse para la concentración y los medios de administración utilizados.

Las formulaciones estables o conservadas reclamadas pueden proporcionarse a los pacientes como soluciones transparentes o como viales dobles que comprenden un vial de al menos un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO liofilizado o una porción o variante especificada que se reconstituye con un segundo vial que contiene un conservador o un amortiguador y excipientes en un diluyente acuoso. Un solo vial con la solución o un vial dual que requiera la reconstitución, pueden reutilizarse múltiples veces y pueden ser suficientes para un solo ciclo o para múltiples ciclos del tratamiento del paciente, y puede proporcionar así un régimen de tratamiento más conveniente que los actualmente disponibles.

Al menos un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada en las formulaciones o soluciones estables o conservadas descritas en la presente, puede administrarse a un paciente de acuerdo con la presente invención, vía una variedad de métodos de suministro, incluyendo inyección SC o IM; transdérmico, pulmonar, transmucoso, implante, bomba osmótica, cartucho, microbomba u otros medios apreciados por el experto, bien conocidos en la técnica.

Aplicaciones Terapéuticas

La presente invención para mimeticuerpos también proporciona un método para modular o tratar la anemia, en una célula, tejido, órgano, animal o paciente, incluyendo, de manera no exclusiva, al menos una de cualquier anemia, anemia relacionada con el tratamiento para el cáncer, anemia relacionada con la radioterapia o la quimioterapia, anemia relacionada con el tratamiento de una infección viral o bacteriana, anemia renal, anemia de la premadurez, anemia asociada con el cáncer pediátrica y/o adulta, anemia asociada con linfoma, mieloma, mieloma múltiple, anemia asociada con el SIDA, tratamiento concomitantes para pacientes con o sin donación de sangre autóloga esperando una cirugía electiva, preoperatoria y postoperatoria para cirugía, donación o transfusión de sangre autóloga, manejo perioperatorio, neutropenia cíclica o síndrome de Kostmann (agranulocitosis congénita), enfermedad renal en etapa terminal, anemia asociada con la diálisis, insuficiencia renal crónica, enfermedades hemopoyéticas primarias, tales como anemia hipoplásica congénita, talasemia mayor, o enfermedad de las células en hoz, complicaciones vasooclusoras de la enfermedad de las células en hoz. Furman et al., Pediatrics 1992; 90:716-728, Goldberg Science. 1988; 242:1412-1415; Paul et al., Exp Hematol. 1984; 12:825-830; Erslev et al., Arch Intern Med. 1968; 122:230-235; Ersley et al., Ann Clin Lab Sci. 1980; 10:250-257; Jacobs et al., Nature. 1985; 313:806-810; Lin et al., Proc Natl Acad Sci USA. 1985; 82:7580-7584; Law et al., Proc Natl Acad Sci USA. 1986; 83:6920-6924; Goldwasser et al., J Biol Chem. 1974;

249:4202-4206; Eaves et al., Blood. 1978; 52:1196-1210; Sawyer et al., Blood. 1989; 74:103-109; Winearls et al., Lancet. 1986; 2:1175-1178; Eschbach et al., N Engl J Med. 1987; 316:73-78; Eschbach et al., Ann Intern Med. 1989; 111:992-1000, cada referencia de incorpora totalmente en la presente como referencia.

Los mimeticuerpos de la presente invención también pueden utilizarse para las formas no renales de de anemia inducida, por ejemplo, por infecciones crónicas, procesos inflamatorios, terapia con radiación y tratamiento con fármacos citostáticos, y se han reportado resultados alentadores en pacientes con anemia no renal. Véase, por ejemplo, Abels RI and Rudnick SA Erythropoietin: evolving clinical applications. Experimental Hematology 19: 842-50 (1991); Graber SE and Krantz SB Erythropoietin: biology and clinical use. Hematology/Oncol. Clin. North Amer. 3: 369-400 (1989); Jelkman W and Gross AJ (eds) Erythropoietin. Springer, Berlin 1989; Koury MJ and Bondurant MC The molecular mechanism of erythropoietin action. European Journal of Biochemistry 210: 649-63 (1992); Krantz SB Erythropoietin. Blood 77: 419-34 (1991); Tabbara IA Erythropoietin. Biology and clinical applications. Archives of Internal Medicine 153: 298-304 (1993), cada una incorporada completamente en la presente como referencia.

La presente invención también proporciona un método para modular o tratar una anemia o condición relacionada con las células sanguíneas, en una célula, tejido, órgano, animal o paciente, en donde la anemia o la condición relacionada con la célula sanguínea está asociada con

al menos una, incluyendo, de manera no exclusiva, al menos una enfermedad inmune relacionada, enfermedad cardiovascular, enfermedad infecciosa, maligna y/o neurológica. Tal método puede comprender opcionalmente, administrar una cantidad efectiva de al menos una composición o composición farmacéutica que comprende al menos un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada a una célula, tejido, órgano, animal o paciente en necesidad de tal modulación, tratamiento o terapia.

La presente invención también proporciona un método para modular o tratar el cáncer/enfermedad infecciosa en una célula, tejido, órgano, animal o paciente, incluyendo, de manera no exclusiva, al menos una de una infección bacteriana aguda o crónica, procesos parasitarios o infecciosos agudos y crónicos, incluyendo infecciones bacterianas, virales y micóticas, infección por VIH/neuropatía por VIH, meningitis, hepatitis, artritis séptica, peritonitis, neumonía, epiglotitis, e. coli 0157:h7, síndrome urémico hemolítico/púrpura trombocitopénica trombolítica, paludismo, fiebre hemorrágica por dengue, leishmaniasis, lepra, síndrome del choque tóxico, miositis por estreptococos, gangrena gaseosa, tuberculosis por micobacterias, micobacterias avium intracelulares, neumonía por pneumocystis carinii, enfermedad inflamatoria pélvica, orquitis/epididimitis, legionella, enfermedad de lyme, influenza a, virus de epstein-barr, síndrome hemafagocítico asociado vital, encefalitis vital/meningitis aséptica y lo similar; (ii) leucemia, leucemia aguda, leucemia linfoblástica aguda (ALL), ALL de linfocitos B, linfocitos T o

FAB, leucemia mieloide aguda (AML), leucemia mielocítica crónica (CML), leucemia linfocítica crónica (CLL), leucemia de las células pilosas, síndrome mielodisplásico (MDS), un linfoma, enfermedad de Hodgkin, un linfoma maligno, linfoma no de hodgkin, linfoma de Burkitt, mieloma múltiple, sarcoma de Kaposi, carcinoma colorrectal, carcinoma pancreático, carcinoma nasofaríngeo, histiocitosis maligna, síndrome paraneoplásico/hipercalcemia de la malignidad, tumores sólidos, adenocarcinomas, sarcomas, melanoma maligno, y lo similar; o (iii) enfermedades neurodegenerativas, esclerosis múltiple, cefalea migrañosa, demencia compleja por el SIDA, enfermedades diesmielinizantes, tales como esclerosis múltiple y mielitis transversa aguda; trastornos extrapiramidales y cerebelares tales como lesiones del sistema corticoespinal; trastornos de los ganglios basales o trastornos cerebelares; trastornos hiperquinéticos del movimiento tales como Corea de Huntington y corea senil; trastornos del movimiento inducidos por fármacos, tales como aquéllos inducidos por fármacos que bloquean los receptores de la dopamina del CNS; trastornos hipoquinéticos del movimiento, tales como enfermedad de Parkinson; Parálisis Progresiva del supranúcleo; lesiones estructurales del cerebelo; degeneraciones espinocerebelares, tales como ataxia espinal, ataxia de Friedreich, degeneraciones corticales cerebelares, degeneraciones de múltiples sistemas (Mencel, Dejerine-Thomas, Shi-Drager y Machado-Joseph); trastornos sistémicos (enfermedad de Refsum, abetalipoproteinemia, ataxia, telangiectasia y trastorno mitocondrial de múltiples sistemas); trastornos del núcleo desmielinizante, tales como esclerosis múltiple, mielitis

transversa aguda; y trastornos de la unidad motora tales como atrofias musculares neurogénicas (degeneración de la célula en asta anterior, tal como esclerosis lateral amiotrófica, atrofia muscular espinal infantil y atrofia muscular espinal juvenil); enfermedad de Alzheimer; Síndrome de Down en la edad madura; enfermedad difusa del cuerpo de Lewy; Demencia Senil del tipo del cuerpo de Lewy; síndrome de Wernicke-Korsakoff; alcoholismo crónico; enfermedad de Creutzfeldt-Jakob; panencefalitis esclerosante subaguda, enfermedad de Hallerrorden-Spatz y Demencia pugilística y lo similar. Tal método puede comprender opcionalmente administrar una cantidad efectiva de una composición o composición farmacéutica que comprende al menos un anticuerpo del TNF o una porción o variante especificada a una célula, tejido, órgano, animal o paciente en necesidad de tal modulación, tratamiento o terapia. Véase, por ejemplo, el Merck Manual, 16a Edición, Merck & Company, Rahway, NJ (1992).

Tal método puede comprender opcionalmente, administrar una cantidad efectiva de al menos una composición o composición farmacéutica que comprende al menos un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada a una célula, tejido, órgano, animal o paciente en necesidad de tal modulación, tratamiento o terapia.

La presente invención también proporciona un método para modular o tratar al menos una enfermedad cardiovascular en una célula, tejido, órgano, animal o paciente, incluyendo, de manera no exclusiva, al

menos uno de un síndrome de choque cardiaco, infarto al miocardio, falla cardiaca congestiva, apoplejía, apoplejía isquémica, hemorragia, arteriosclerosis, aterosclerosis, enfermedad ateriosclerótica diabética, hipertensión, hipertensión arterial, hipertensión renovascular, síncope, sífilis del sistema cardiovascular, falla cardiaca, corazón pulmonar, hipertensión pulmonar primaria, arritmias cardiacas, latidos atriales ectópicos, agitación atrial, fibrilación atrial (sostenida o paroxismal), taquicardia atrial caótica o multifocal, taquicardia QRS estrecha regular, arritmias específicas, fibrilación ventricular, arritmias del haz His, bloque atrioventricular, bloque ramificado del haz, trastornos isquémicos miocárdicos, enfermedad de la arteria coronaria, angina de pecho, infarto al miocardio, cardiomiopatía, cardiomiopatía congestiva dilatada, cardiomiopatía restrictiva, enfermedades cardiacas vasculares, endocarditis, enfermedad pericárdica, tumores cardiacos, aneurismas aórticos y periféricos, disección aórtica, inflamación de la aorta, oclusión de la aorta abdominal y sus ramificaciones, trastornos vasculares periféricos, trastornos arteriales oclusivos, enfermedad aterosclerótica periférica, enfermedad de Buerger, trastornos funcionales de la arteria periférica, fenómeno y enfermedad de Raynaud, acrocianosis, eritromelalgia, enfermedades venosas, trombosis venosa, venas varicosas, fístula arteriovenosa, linfedema, lipedema, angina inestable, lesión por reperfusión, síndrome postbomba, lesión por isquemia por reperfusión y lo similar. Tal método puede comprender opcionalmente administrar una cantidad efectiva de una composición o composición farmacéutica que comprende al menos un

mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada a una célula, tejido, órgano, animal o paciente en necesidad de tal modulación, tratamiento o terapia.

Cualquier método de la presente invención puede comprender administrar una cantidad efectiva de una composición o composición farmacéutica que comprende al menos un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada a una célula, tejido, órgano, animal o paciente en necesidad de tal modulación, tratamiento o terapia. Tal método puede comprender además, opcionalmente, la coadministración o terapia de combinación para tratar tales enfermedades inmunes, en donde la administración de al menos un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO, una porción o variante especificada del mismo, comprende además administrar, antes, de manera concurrente y/o después, al menos uno seleccionado de al menos un antagonista del TNF (por ejemplo, de manera no exclusiva, un anticuerpo o fragmento del TNF, un receptor o fragmentos soluble del TNF, proteínas de fusión del mismo, o un antagonista del TNF de molécula pequeña), un antirreumático, un relajante muscular, un narcótico, un fármaco antiinflamatorio no esteroideo (NSAID), un analgésico, un anestésico, un sedante, un anestésico local, un bloqueador neuromuscular, un antimicrobiano (por ejemplo, aminoglucósido, un antimicótico, un antiparasitario, un antiviral, un carbapenem, cefalosporina, una flurorquinolona, un macrólido, una penicilina, una sulfonamida, una tetraciclina, otro antimicrobiano), un antisoriático, un corticosteroide, un

esteroide anabólico, un agente relacionado con la diabetes, un mineral, un nutriente, un agente tiroideo, una vitamina, una hormona relacionada con el calcio, un antidiarreico, un antitusivo, un antiemético, un antiúlcera, un laxante, un anticoagulante, una eritropoyetina (por ejemplo, epoyetina alfa), un filgrastim (por ejemplo, G-CSF, Neupogen), un sargramostim (GM-CSF, Leucina), una inmunización, una inmunoglobulina, un inmunosupresor (por ejemplo, basiliximab, ciclosporina, daclizumab), una hormona del crecimiento, un fármaco para el reemplazo hormonal, un modulador del receptor del estrógeno, un midriático, un cicloplégico, un agente alquilante, un antimetabolito, un inhibidor mitótico, un radiofarmacéutico, un antidepresivo, un agente antimaniaco, un antisicótico, un ansiolítico, un hipnótico, un simpatomimético, un estimulante, donepezilo, tacrina, una medicación para el asma, un agonista beta, un esteroide inhalado, un inhibidor de leucotrieno, una metilxantina, una cromolina, una epinefrina o análogo, dornasa alfa (Pulmozyme), una citocina o un antagonista de la citocina. Las dosificaciones adecuadas son bien conocidas en la técnica. Véase, por ejemplo, Wells et al., eds., Pharmacotherapy Handbook, 2a Edición, Appleton and Lange, Stamford, CT (2000); PDR Pharmacopoeia, Tarascon Pocket Pharmacopoeia 2000, Edición de lujo, Tarascon Publishing, Loma Linda, CA (2000), cada una de las referencias se incorporan completamente en la presente como referencia.

Los mimeticuerpos también pueden utilizarse ex vivo, tal como en un cultivo antólogo de médula. Brevemente, la médula ósea se retira de un paciente antes de la quimioterapia y se trata con TPO y/o EPO, opcionalmente

en combinación con mimeticuerpos, opcionalmente en combinación con una o más citocinas adicionales. La médula tratada es regresada a continuación al paciente después de la quimioterapia para acelerar la recuperación de la médula. Además, la TPO, sola o en combinación con los mimeticuerpos de la EPO y/o EPO, puede utilizarse para la expansión ex vivo de la médula en las células progenitoras de la sangre periférica (PBPC) de la médula. Antes del tratamiento con quimioterapia, la médula puede estimularse con el factor de las células germinales (SCF) o G-CSF para liberar las células progenitoras iniciales en la circulación sanguínea. Estos progenitores se recolectan opcionalmente y se concentran de la sangre periférica y a continuación se tratan en cultivo con TPO y mimeticuerpos, opcionalmente en combinación con una o más de otras citocinas, incluyendo, de manera no exclusiva SCF, G-CSF, IL-3, GM-CSF, IL-6 o IL-11, para diferenciar y proliferar en cultivos de megacariocitos de alta densidad, lo cuales opcionalmente, se regresan a continuación al paciente después de una quimioterapia de altas dosis. Las dosis de la TPO para el tratamiento ex vivo de la médula ósea estarán en el intervalo de 100 pg/ml a 10 ng/ml, de manera preferida 500 pg/ml a 3 ng/ml. Las dosis de los mimeticuerpos serán equivalentes en actividad a la EPO que puede utilizarse de 0.1 unidades/ml a 20 unidades/ml, de manera preferida, de 0.5 unidades/ml a 2 unidades/ml, o cualquier intervalo o valor en el mismo.

Los antagonistas del TNF adecuados para las composiciones, terapia de combinación, coadministración, dispositivos y/o métodos de la presente invención (que comprenden además, al menos un anticuerpo,

porción o variante especificada del mismo, de la presente invención), incluyen, de manera no exclusiva, anticuerpos anti-TNF, fragmentos que se une al ligando de los mismos, y moléculas receptoras que se unen específicamente al TNF; compuestos los cuales evitan y/o inhiben la síntesis del TNF, la liberación del TNF o su acción en las células objetivo, tales como talidomida, tenidap, inhibidores de la fosfodiesterasa (por ejemplo, pentoxifilina y rolipram), agonistas del receptor de la adenosina A2b y mejoradores del receptor de la adenosina A2b; compuestos que evitan y/o inhiben la señalización del receptor del TNF, tales como los inhibidores de la cinasa de la proteína activada por el mitógeno (MAP); compuestos que bloquean y/o inhiben la escisión del TNF de la membrana, tales como inhibidores de la metaloproteinasa; compuestos que bloquean y/o inhiben la actividad del TNF, tales como inhibidores de la enzima que convierte la angiotensina (ACE) (por ejemplo, captopril); y compuestos que bloquean y/o inhiben la producción y/o síntesis del TNF, tales como inhibidores de la cinasa MAP.

Como se utiliza en la presente, un "anticuerpo del factor de necrosis del tumor", "anticuerpo de TNF", "anticuerpo de TNFα" o fragmento y lo similar, disminuye, bloquea, inhibe, anula o interfiere con la actividad del TNFα in vitro, in situ y/o de manera preferida in vivo. Por ejemplo, un anticuerpo del TNF humano adecuado de la presente invención puede unirse al TNFα e incluye anticuerpos anti-TNF, fragmentos que se unen al antígeno de los mismos, y mutantes o dominios especificados de los mismos que se unen específicamente al TNFα. Un anticuerpo o fragmento del TNF adecuado

también puede disminuir, bloquear, anular, interferir, prevenir y/o inhibir el ARN, ADN del TNF, o síntesis de las proteínas, la liberación del TNF, la señalización del receptor del TNF, la escisión del TNF de la membrana, la actividad del TNF, la producción y/o síntesis del TNF.

El anticuerpo cA2 quimérico consiste de una región variable que se une al antígeno del anticuerpo de IgG1 del TNFα anti-humano de ratón, neutralizante, de alta afinidad, designado como A2, y las regiones constantes de la IgG1 humana, inmunoglobulina kappa. La región Fc de IgG1 humana mejora la función efectora del anticuerpo alogeneico, incrementa la vida media en suero circulante y disminuye la inmunogenicidad del anticuerpo. La fuerza y la especificidad del epitopo del anticuerpo cA2 quimérico de derivan de la región variable del anticuerpo A2 murino. En una modalidad particular, una fuente preferida para los ácidos nucleicos que codifican la región variable del anticuerpo A2 murino es la línea celular del hibridoma A2.

El A2 quimérico (cA2) neutraliza el efecto citotóxico del TNFα humano natural y recombinante de una manera dependiente de la dosis. De los ensayos de unión del anticuerpo cA2 quimérico y el TNFα humano recombinante, la constante de afinidad del anticuerpo cA2 quimérico se calculó como que es de $1.04 \times 10^{10} M^{-1}$. Los métodos preferidos para determinar la especificidad y la afinidad del anticuerpo monoclonal mediante la inhibición competitiva, puede encontrarse en Harlow, et al., Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, 1988; Colligan et al., eds., Current Protocols in Immunology,

Greene Publishing Assoc. and Wiley Interscience, New York, (1992-2003); Kozbor et al., Immunol. Today, 4: 72-79 (1983); Ausubel et al., eds. Current Protocols in Molecular Biology, Wiley Interscience, New York (1987-2003); y Muller, Meth. Enzymol., 92: 589-601 (1983), referencias las cuales están incorporadas completamente en la presente como referencia.

En una modalidad particular, el anticuerpo A2 monoclonal murino se produce mediante una línea celular designada c134A. El anticuerpo quimérico cA2 se produce mediante una línea celular designada c168A.

Los ejemplos adicionales de anticuerpos monoclonales anti-TNF que pueden utilizarse en la presente invención se describen en la técnica (véase, por ejemplo, Patente de E.U.A. No. 5,231,024; Moller, A. et al., Cytokine 2(3):162-169 (1990); Solicitud de E.U.A. No. 07/943,852 (presentada en Septiembre 11, de 1992); Rathjen et al., Publicación Internacional No. WO 91/02078 (publicada en Febrero 21, de 1991); Rubin et al., Publicación de Patente EPO No. 0 218 868 (publicada en Abril 22, de 1987); Yone et al., Publicación de Patente EPO No. 0 288 088 (Octubre 26, de 1988); Liang, et al., Biochem. Biophys. Res. Comm. 137:847-854 (1986); Meager, et al., Hybridoma 6: 305-311 (1987); Fendly et al., Hybridoma 6: 359-369 (1987); Bringman, et al., Hybridoma 6: 489-507 (1987); y Hirai, et al., J. Immunol. Meth. 96:57-62 (1987), referencias las cuales están incorporadas completamente en la presente como referencia).

Moléculas del receptor del TNF

Las moléculas preferidas del receptor del TNF útiles en la presente invención son aquéllas que se unen al TNFα con alta afinidad (véase, por ejemplo, Feldmann et al., Publicación Internacional No. WO 92/07076 (publicada en Abril 30, de 1992); Schall et al., Cell 61:361-370 (1990); y Loetscher et al., Cell 61:351-359 (1990), referencias las cuales se incorporan completamente en la presente como referencia) y poseen opcionalmente baja inmunogenicidad. En particular, los receptores de la superficie de la célula del TNF de 55 kDa (p55 TNF-R) y de 75 kDa (p75 TNF-R), son útiles en la presente invención. Las formas truncas de estos receptores, que comprenden los dominios extracelulares (ECD) de los receptores o las porciones funcionales de los mismos (véase, por ejemplo, Corcoran et al., Eur. J. Biochem. 223:831-840 (1994)), también son útiles en la presente invención. Las formas truncas de los receptores del TNF, que comprenden el ECD, se han detectado en la orina y el suero como proteínas de unión inhibidoras del TNFα de 30 kDa y 40 kDa (Engelmann, H. et al., J. Biol. Chem. 265:1531-1536 (1990)). Las moléculas multiméricas del receptor del TNF y las moléculas de fusión del inmunorreceptor del TNF y los derivados o fragmentos o porciones de las mismas, son ejemplos adicionales de las moléculas del receptor de TNF que son útiles en los métodos y composiciones de la presente invención. Las moléculas del receptor de TNF que pueden utilizarse en la invención, están caracterizadas por su capacidad para tratar pacientes durante periodos extendidos con un alivio de los

síntomas de bueno a excelente y baja toxicidad. La inmunogenicidad baja y/o la alta afinidad, así como otras propiedades no definidas, pueden contribuir a los resultados terapéuticos alcanzados.

Las moléculas multiméricas del receptor de TNF útiles en la presente invención comprenden toda o una porción funcional del ECD de dos o más receptores del TNF enlazados vía uno o más enlazantes polipeptídicos u otros enlazantes no peptídicos, tales como polietilenglicol (PEG). Las moléculas multiméricas pueden comprender además un péptido de señal de una proteína secretada para dirigir la expresión de la molécula multimérica. Estas moléculas multiméricas y los métodos para su producción se han descrito en la Solicitud de E.U.A. No. 08/437,533 (presentada en Mayo 9, de 1995), el contenido de la cual se incorpora completamente en la presente como referencia.

Las moléculas de fusión del inmunorreceptor del TNF útiles en los métodos y composiciones de la presente invención, comprenden al menos una porción de una o más moléculas de inmunoglobulina y toda o una porción funcional de uno o más receptores del TNF. Estas moléculas de fusión del inmunorreceptor pueden montarse como monómeros o hetero o homomultímeros. Las moléculas de fusión del inmunorreceptor también pueden ser monovalentes o multivalentes. Un ejemplo de tales moléculas de fusión del inmunorreceptor de TNF es el receptor del TNF/proteína de fusión de IgG. Las moléculas de fusión del inmunorreceptor del TNF y los métodos para su producción se han descrito en la técnica (Lesslauer et al., *Eur. J.*

Immunol. 21:2883-2886 (199l1; Ashkenazi et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88:10535-10539 (1991); Peppel et al., *J. Exp. Med.* 174:1483-1489 (1991); Kolls et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91:215-219 (1994); Butler et al., Cytokine 6(6):616-623 (1994); Baker et al., *Eur. J. Immunol.* 24:2040-2048 (1994); Beutler et al., Patente de E.U.A. No. 5,447,851; y Solicitud de E.U.A. No. 08/442,133 (presentada en Mayo 16, de 1995), cada una de las referencias se incorpora completamente en la presente como referencia). Los métodos para producir las moléculas de fusión del inmunorreceptor también pueden encontrarse en Capon et al., Patente de E.U.A. No. 5,116,964; Capon et al., Patente de E.U.A. No. 5,225,538; y Capon et al., *Nature* 337:525-531 (1989), referencias las cuales se incorporan completamente en la presente como referencia.

Un equivalente, derivado, fragmento o región funcional de la molécula del receptor de TNF se refiere a la porción de la molécula del receptor de TNF, o la porción de la secuencia de la molécula del receptor del TNF que codifica la molécula del receptor del TNF, que es de un tamaño suficiente y las secuencias para parecerse funcionalmente a las moléculas del receptor del TNF que pueden utilizarse en la presente invención (por ejemplo, se une al TNFα con alta afinidad y posee baja inmunogenicidad). Un equivalente funcional de la molécula del receptor del TNF también incluye moléculas del receptor del TNF modificadas, que se parecen funcionalmente a las moléculas del receptor del TNF que pueden utilizarse en la presente invención (por ejemplo, se une al TNFα con alta afinidad y posee baja

inmunogenicidad). Por ejemplo, un equivalente funcional de la molécula del receptor del TNF puede contener un codón "SILENCIOSO" o una o más sustituciones, supresiones o adiciones de aminoácidos (por ejemplo, la sustitución de un aminoácido ácido por otro aminoácido ácido; o la sustitución de un codón que codifica el mismo aminoácido hidrofóbico o uno diferente por otro codón que codifica un aminoácido hidrofóbico). Véase, Ausubel et al., Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publishing Assoc. and Wiley-Interscience, New York (1987-2003).

Las citocinas incluyen, de manera no exclusiva, todas las citocinas conocidas. Véase, por ejemplo, CopewithCytokines.com. Los antagonistas de la citocina incluyen, de manera no exclusiva, cualquiera anticuerpo, fragmento o mimético, cualquier receptor soluble, fragmento o mimético, cualquier antagonista de molécula pequeña o cualquier combinación de los mismos.

Cualquier método de la presente invención puede comprender un método para tratar un trastorno mediado por la proteína, que comprende administrar una cantidad efectiva de una composición o composición farmacéutica que comprende al menos un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada a una célula, tejido, órgano, animal o paciente en necesidad de tal modulación, tratamiento o terapia. Tal método puede comprender además opcionalmente la coadministración o terapia de combinación para tratar tales enfermedades inmunes, en donde la administración de al menos un mimeticuerpo central de

la región de bisagra, mimético de la EPO, una porción o variante especificada del mismo, comprende además administrar, antes de, de manera concurrente y/o después, al menos una seleccionada de al menos una de otras citocinas tales como IL-3, -6 y -11; factor de las células germinales; G-CSF y GM-CSF.

Típicamente, el tratamiento de las condiciones patológicas se efectúa administrando una cantidad o dosificación efectiva de al menos una composición de mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO que totaliza, en promedio, un intervalo de al menos aproximadamente 0.01 a 500 miligramos de al menos un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada/kilogramo de paciente por dosis, y de manera preferida de al menos aproximadamente 0.1 a 100 miligramos de mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada/kilogramo de paciente por administración única o múltiple, dependiendo de la actividad especifica contenida en la composición. De manera alterna, la concentración efectiva en suero puede comprender 0.1-5000 µg/ml de concentración en suero por administración única o múltiple. Las dosificaciones adecuadas se conocen por los practicantes médicos y dependerán, por supuesto, del estado de enfermedad particular, la enfermedad específica de la composición siendo administrada y el paciente particular que se somete al tratamiento. En algunos casos, para lograr la cantidad terapéutica deseada, puede ser necesario proporcionar una administración repetida, es decir, administraciones individuales repetidas de una dosis particular verificada o medida, en donde

las administraciones individuales se repiten hasta que se alcance la dosis o el efecto diario deseado.

Las dosis preferidas pueden incluir opcionalmente 0.01, 0.02, 0.03, 0.04, 0.05. 0.06, 0.07, 0.08, 009, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 y/o 30 mg/kg/administración o cualquier intervalo, valor o fracción del mismo, o para alcanzar una concentración en suero de 0.1, 0.5, 0.9, 1.0, 1.1, 1.2, 1.5, 1.9, 2.0, 2.5, 2.9, 3.0, 3.5, 3.9, 4.0, 4.5, 4.9, 5.0, 5.5, 5.9, 6.0, 6.5, 6.9, 7.0, 7.5, 7.9, 8.0, 8.5, 8.9, 9.0, 9.5, 9.9, 10, 10.5, 10.9, 11, 11.5, 11.9, 20, 12.5, 12.9, 13.0, 13.5, 13.9, 14.0, 14.5, 4.9, 5.0, 5.5, 5.9, 6.0, 6.5, 6.9, 7.0, 7.5, 7.9, 8.0, 8.5, 8.9, 9.0, 9.5, 9.9, 10, 10.5, 10.9, 11, 11.5, 11.9, 12, 12.5, 12.9, 13.0, 13.5, 13.9, 14, 14.5, 15, 15.5, 15.9, 16, 16.5, 16.9, 17, 17.5, 17.9, 18, 18.5, 18.9, 19, 19.5, 19.9, 20, 20.5, 20.9, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 96, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1500, 2000, 2500, 3000, 3500, 4000, 4500 y/o 5000/ml de concentración en suero por administración única o múltiple, o cualquier intervalo, valor o fracción del mismo.

De manera alterna, la dosificación administrada puede variar dependiendo de factores conocidos, tales como las características farmacodinámicas del agente particular y su modo y ruta de administración; edad, salud y peso del receptor; naturaleza y extensión de los síntomas, clase de tratamiento concurrente frecuencia del tratamiento y el efecto deseado. Usualmente, una dosificación del ingrediente activo puede ser de

aproximadamente 0.1 a 100 miligramos por kilogramo de peso corporal. De manera ordinaria, 0.1 a 50, y de manera preferida 0.1 a 10 miligramos por kilogramo por administración o en una forma de liberación sostenida, son efectivos para obtener los resultados deseados.

Como un ejemplo no limitante, el tratamiento de humanos o animales puede proporcionarse como una dosificación a un tiempo o periódica de al menos un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada de la presente invención, de 0.01 a 100 mg/kg, tal como 0.5, 0.9, 1.0, 1.1, 1.5, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 40, 45, 50, 60, 70, 80, 90 ó 100 mg/kg, por día, en al menos uno del día 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39 ó 40, o de manera alterna, al menos una de la semana 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 ó 20, o cualquier combinación de los mismo, utilizando dosis únicas, de infusión o repetidas.

Las formas de dosificación (composición) adecuadas para la administración interna, contienen generalmente de aproximadamente 0.0001 miligramos a aproximadamente 500 miligramos del ingrediente activo por unidad o recipiente. En estas composiciones farmacéuticas, el ingrediente activo estará presente ordinariamente en una cantidad de aproximadamente 0.5-95% en peso basándose en el peso total de la composición.

Para la administración parenteral, el mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada, puede formularse como una solución, suspensión, emulsión o polvo liofilizado en asociación o proporcionado de manera separada, con un vehículo parenteral farmacéuticamente aceptable. Los ejemplos de tales vehículos son agua, suero fisiológico, solución de Ringer, solución de dextrosa y seroalbúmina humana al 5%. Los liposomas y vehículos no acuosos, tales como aceites fijos, también pueden utilizarse. El vehículo o el polvo liofilizado puede contener aditivos que mantienen la isotonicidad (por ejemplo, cloruro de sodio, manitol) y la estabilidad química (por ejemplo, amortiguadores y conservadores). La formulación es esterilizada mediante técnicas conocidas o adecuadas.

Los portadores farmacéuticos adecuados se describen en la edición más reciente de Remington's Pharmaceutical Sciences, A. Osol, un texto de referencia estándar en este campo.

Administración Terapéutica

Muchos modos conocidos y desarrollados pueden utilizarse de acuerdo con la presente invención para administrar cantidades terapéuticamente efectivas de al menos un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada de acuerdo con la presente invención. Mientras que la administración pulmonar

se utiliza en la siguiente descripción, otros modos de administración pueden utilizarse de acuerdo con la presente invención con resultados adecuados.

Un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO de la presente invención puede suministrarse en un portador, como una solución, emulsión, coloide o suspensión o como un polvo, utilizando cualquiera de una variedad de dispositivos y métodos adeudados para la administración mediante inhalación u otros modos descritos en la presente dentro o conocidos en la técnica.

Formulaciones parenterales y administración

Las formulaciones para la administración parenteral pueden contener como excipientes comunes agua o suero fisiológico estéril, polialquilenglicoles, tales como polietilenglicol, aceites de origen vegetal, naftalenos hidrogenados y lo similar. Las suspensiones acuosas u oleosas para inyección pueden prepararse utilizando un emulsificante o humidificante apropiado y un agente de suspensión, de acuerdo con los métodos conocidos. Los agentes para la inyección pueden ser un agente diluyente no tóxico, no administrable oralmente, tal como una solución acuosa o una solución o suspensión inyectable estéril en un solvente. Como el vehículo o solvente útil, el agua, solución de Ringer, suero fisiológico isotónico, etc., se permiten, como el solvente ordinario o el solvente de suspensión, puede utilizarse aceite no volátil estéril. Para estos propósitos, cualquier clase de aceite y ácido graso no volátil puede utilizarse, incluyendo aceites grasos o ácidos grasos

naturales o sintéticos o semisintéticos; mono o di o triglicéridos naturales o sintéticos o semisintéticos. La administración parental se conoce en la técnica e incluye, de manera no exclusiva, medios convencionales de inyecciones, un dispositivo de inyección sin aguja presurizado con gas, como se describe en la Patente de E.U.A. No. 5,851,198, y un dispositivo perforador con láser como se describe en la Patente de E.U.A. No. 5,839,446, incorporadas completamente en la presente como referencia.

Suministro alterno

La invención se relaciona además con la administración de al menos un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada por medios parenteral, subcutáneo, intramuscular, intravenoso, bolo, vaginal, rectal, bucal, sublingual, intranasal, o transdérmico. Las composiciones de la proteína, mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada, pueden prepararse para uso para la administración parenteral (subcutánea, intramuscular o intravenosa), particularmente en la forma de soluciones o suspensiones líquidas; para uso en la administración vaginal o rectal, particularmente formas semisólidas tales como cremas y supositorios; para la administración bucal o sublingual, particularmente en la forma de tabletas o cápsulas; o intranasalmente, particularmente en la forma de polvos, gotas nasales o aerosoles o ciertos agentes; o transdérmicamente, en particular en la forma de un gel, ungüento, loción, suspensión o sistema de suministro de

parche con mejoradores químicos tales como sulfóxido de dimetilo para modificar la estructura de la piel o para incrementar la concentración del fármaco en el parche transdérmico (Junginger, et al., En "Drug Permeation Enhancement"; Hsieh, D. S., Eds., pp. 59-90 (Marcel Dekker, Inc. New York 1994, incorporada completamente en la presente como referencia), o con agentes oxidantes que permiten la aplicación de formulaciones que contienen proteínas y péptidos en la piel (WO 98/53847), o aplicación de campos eléctricos para crear trayectorias de transporte transitorias tales como electroporación, o para incrementar la movilidad de los fármacos cargados a través de la piel, tales como iontoforesis, o aplicación de ultrasonido tal como sonoforesis (Patentes de E.U.A. Nos. 4,309,989 y 4,767,402) (las publicaciones y patentes anteriores se incorporan completamente en la presente como referencia).

Administración pulmonar/nasal

Para la administración pulmonar, de manera preferida, al menos una composición de mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada, se suministra en un tamaño de partícula efectivo para alcanzar las vías aéreas inferiores del pulmón o los senos. De acuerdo con la invención, al menos un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada puede suministrarse por cualquiera de una variedad de dispositivos de inhalación o nasales conocidos en la técnica para la administración de un

agente terapéutico mediante inhalación. Estos dispositivos son capaces de depositar formulaciones aerosolizadas en la cavidad de los senos o los alvéolos de un paciente, incluyen inhaladores de dosis medida, nebulizadores, generadores de polvos secos, rociadores y lo similar. Otros dispositivos adecuados para dirigir la administración pulmonar o nasal del mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificadas, también se conocen en la técnica. Tales dispositivos pueden utilizar formulaciones adecuadas para la administración para distribuir el mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada en un aerosol. Tales aerosoles pueden comprender soluciones (tanto acuosas como no acuosas) o partículas sólidas. Los inhaladores de dosis medida como el inhalador de dosis medida Ventolin®, utiliza típicamente un gas propulsor y requiere el accionamiento durante la inspiración (Véase, por ejemplo, WO 94/16970, WO 98/35888). Los inhaladores de polvo seco como Turbuhaler™ (Astra), Rotahaler® (Glaxo), Diskus® (Glaxo), inhalador Spiros™ (Dura), dispositivos comercializados por Inhale Therapeutics, y el inhalador de polvo Spinhaler® (Fisons), utiliza el accionamiento por la respiración de un polvo mezclado (US 4668218 Astra, EP 237507 Astra, WO 97/25086 Glaxo, WO 94/08552 Dura, US 5458135 Inhale, WO 94/06498 Fisons, incorporadas completamente en la presente como referencia). Los nebulizadores como AERx™ Aradigm, el nebulizador Ultravent® (Mallinckrodt), y el nebulizador Acorn II® (Marquest Medical Products) (US 5404871 Aradigm, WO 97/22376), las referencias anteriores

están incorporadas completamente en la presente como referencia, producen aerosoles de soluciones, mientras que los inhaladores de dosis medida, los inhaladores de polvo seco, etc., generan aerosoles de partícula pequeña. Estos ejemplos específicos de dispositivos de inhalación comercialmente disponibles, pretenden ser representativos de dispositivos específicos adecuados para la práctica de esta invención, y no pretenden limitar el alcance de la invención. De manera preferida, una composición que comprende al menos un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada se suministra mediante un inhalador de polvo seco o un rociador. Existen varias características deseables de un dispositivo de inhalación para la administración de al menos un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada de la presente invención. Por ejemplo, el suministro por el dispositivo de inhalación es, de manera ventajosa confiable, reproducible y exacta. El dispositivo de inhalación puede suministrar opcionalmente partículas secas pequeñas, por ejemplo, menos que aproximadamente 10 µm, de manera preferida aproximadamente 1-5 µm, para una buena respirabilidad.

Administración de las composiciones del mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada como un rocío

Un rocío que incluye una composición de un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada, puede producirse pasando una suspensión o solución de al menos un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada a través de una boquilla bajo presión. El tamaño y configuración de la boquilla, la presión aplicada y la velocidad e alimentación del líquido puede elegirse para alcanzar la salida y el tamaño de partícula deseados. Puede producirse un electrorrocío, por ejemplo, mediante un campo eléctrico en conexión con una alimentación capilar o de boquilla. De manera ventajosa, las partículas de al menos una proteína de una composición del mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada, suministrada por un rociador, tienen un tamaño de partícula menor que aproximadamente 10 µm, de manera preferida en el intervalo de aproximadamente 1 µm a aproximadamente 5 µm, y de manera más preferida aproximadamente 2 µm a aproximadamente 3 µm.

Las formulaciones de al menos una proteína de una composición de un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada adecuada para utilizarse con un rociador, incluye típicamente una proteína de una composición de un mimeticuerpo

central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada en una solución acuosa a una concentración de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 20 mg de al menos una proteína de una composición de un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada por ml de solución. La formulación puede incluir agentes tales como un excipiente, un amortiguador, un agente para la isotonicidad, un conservador, un tensioactivo y, de manera preferida, zinc. La formulación también puede incluir un excipiente o agente para la estabilización de la proteína de la composición del mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada, tal como un amortiguador, un agente reductor, una proteína a granel o un carbohidrato. Las proteínas a granel útiles en la formulación de las proteínas de la composición del mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada incluyen albúmina, protamina o lo similar. Los carbohidratos típicos útiles en la formulación de las proteínas de la composición del mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada incluyen sucrosa, manitol, lactosa, trehalosa, glucosa o lo similar. La formulación de la proteína de la composición del mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada también puede incluir un tensioactivo, el cual puede reducir o evitar la agregación inducida en la superficie de la proteína de la composición del mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una

porción o variante especificada, causada por la atomización de la solución al formar un aerosol. Varios tensioactivos convencionales pueden emplearse, tales como ésteres de ácidos grasos de polioxietileno y alcoholes y ésteres de ácido graso de polioxietilen sorbitol. Las cantidades variarán generalmente entre 0.001 y 14% en peso de la formulación. Los tensioactivos especialmente preferidos para los propósitos de esta invención son el monooleato de polioxietilen sorbitan, polisorbato 80, polisorbato 20, o lo similar. Los agentes adicionales conocidos en la técnica para la formulación de una proteína tales como los mimeticuerpos, o porciones o variantes especificadas, también pueden incluirse en la formulación.

Administración de las composiciones del mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada mediante un nebulizador

La proteína de la composición del mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada puede administrarse mediante un nebulizador, tal como un nebulizador de chorro o un nebulizador ultrasónico. Típicamente, en un nebulizador de chorro, una fuente de aire comprimido se utiliza para crear un chorro de aire a alta velocidad a través de un orificio. Conforme el gas se expande más allá de la boquilla, se crea una región de baja presión, la cual extrae una solución de una proteína de la composición del mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada a través de

un tubo capilar conectado a un depósito de líquido. La corriente líquida del tubo capilar es cortada en filamentos inestables y gotas conforme sale del tubo, creando el aerosol. Una gama de configuraciones, velocidades de flujo y tipos de deflectores puede emplearse para alcanzar las características de desempeño deseadas para un nebulizador de chorro dado. En un nebulizador ultrasónico, la energía eléctrica de alta frecuencia se utiliza para crear energía vibracional, mecánica, empleando típicamente un transductor piezoeléctrico. Esta energía se transmite a la formulación de la proteína de la composición del mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada ya sea directamente o a través de un fluido de acoplamiento creando un aerosol que incluye la proteína de la composición del mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada. De manera ventajosa, las partículas de la proteína de la composición del mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada, suministradas por el nebulizador, tienen un tamaño de partícula menor que aproximadamente 10 µm, de manera preferida, en el intervalo de aproximadamente 1 µm a aproximadamente 5 µm, y de manera más preferida aproximadamente 2 µm a aproximadamente 3 µm.

Las formulaciones de al menos un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada adecuada para utilizarse con un nebulizador, ya sea de chorro o ultrasónico, incluyen típicamente una proteína de la composición del mimeticuerpo central

de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada en una solución acuosa a una concentración de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 20 mg de al menos una proteína del mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada por ml de solución. La formulación puede incluir agentes tales como un excipiente, un amortiguador, un agente para isotonicidad un conservador, un tensioactivo y, de manera preferida, zinc. La formulación también puede incluir un excipiente o agente para la estabilización de al menos una proteína de la composición del mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada, tal como un amortiguador, un agente reductor, una proteína a granel o un carbohidrato. Las proteínas a granel útiles en la formulación de al menos una proteína de la composición del mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada incluyen albúmina, protamina o lo similar. Los carbohidratos típicos útiles en la formulación de al menos un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada incluye sucrosa, manitol, lactosa, trehalosa, glucosa, o lo similar. La al menos una formulación de mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada incluye también puede incluir un tensioactivo, el cual puede reducir o evitar la agregación inducida por la superficie de al menos un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada, causada por la atomización de la solución al

formar un aerosol. Varios tensioactivos convencionales pueden emplearse, tales como ésteres de ácido graso de polioxietileno y alcoholes, y ésteres de ácido graso de polioxietilen sorbital. Las cantidades variarán generalmente entre 0.001 y 4% en peso de la formulación. Los tensioactivos preferidos especialmente para los propósitos de esta invención son monooleato de polioxietilen sorbitan, polisorbato 80, polisorbato 20, o lo similar. Los agentes adicionales conocidos en la técnica para la formulación de la proteína tal como al menos una proteína del mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada también pueden incluirse en la formulación.

Administración de las composiciones del mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada mediante un inhalador de dosis medida

En un inhalador de dosis medida (MDI), un propelente, al menos un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada, y cualquier excipiente u otro aditivo, están contenidos en una caja como una mezcla que incluye un gas comprimido o licuado. El accionamiento de la válvula de dosificación libera la mezcla como un aerosol, de manera preferida, que contiene partículas en el intervalo de tamaño de menos que aproximadamente 10 µm, de manera preferida aproximadamente 1 µm a aproximadamente 5 µm, y de manera más preferida aproximadamente 2 µm a aproximadamente 3 µm. El tamaño deseado de la

partícula del aerosol puede obtenerse empleando una formulación de una proteína de la composición del mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada, producida por varios métodos conocidos por aquellos con experiencia en la técnica, incluyendo molino de chorro, secado por aspersión, condensación del punto crítico o lo similar. Los inhaladores de dosis medida preferidos incluyen aquellos fabricados por 3M o Glaxo y emplean un propelente de hidrofluorocarbono.

Las formulaciones de al menos un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada para utilizarse con un dispositivo inhalador de dosis medida, incluirán generalmente un polvo finamente dividido que contiene al menos un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada como una suspensión en un medio no acuoso, por ejemplo, suspendido en un propelente con la ayuda de un tensioactivo. El propelente puede ser cualquier material convencional empleado para este propósito, tal como clorofluorocarbono, un hidroclorofluorocarbono, un hidrofluorocarbono o un hidrocarbono, incluyendo triclorofluorometano, diclorodifluorometano, diclorotetrafluoroetanol y 1,1,1,2-tetrafluoroetano, HFA-134a (hidrofluroalcano-134a), HFA-227 (hidrofluroalcano-227), o lo similar. De manera preferida, el propelente es un hidrofluorocarbono. El tensioactivo puede elegirse para estabilizar el menos un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada como

una suspensión en el propelente, para proteger al agente activo contra la degradación química y lo similar. Los tensioactivos adecuados incluyen trioleato de sorbitan, lecitina de soya, ácido oleico o lo similar. En algunos casos, se prefieren los aerosoles en solución que utilizan solventes tales como etanol. Los agentes adicionales conocidos en la técnica para la formulación de una proteína tal como una proteína, también pueden incluirse en la formulación.

Alguien con experiencia ordinaria en la técnica reconocerá que los métodos de la invención actual pueden lograrse mediante la administración pulmonar de al menos una composición de un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada vía dispositivos no descritos en la presente.

Formulaciones mucosas y administración

Para la absorción a través de las superficies mucosas, las composiciones y métodos para administrar al menos un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada, incluyen una emulsión que comprende una pluralidad de partículas submicrométricas, una macromolécula mucoadhesiva, un péptido bioactivo y una fase continua acuosa, la cual fomenta la absorción a través de las superficies mucosas logrando la mucoadhesión de las partículas de la emulsión (Patente de E.U.A. No. 5,514,670). Las superficies mucosas adecuadas para la aplicación de las emulsiones de la presente invención

pueden incluir rutas de administración cornea, conjuntiva, bucal, sublingual, nasal, vaginal, pulmonar, estomacal, intestinal y rectal. Las formulaciones para la administración vaginal o rectal, por ejemplo, supositorios, pueden contener como excipientes, por ejemplo, polialquilenglicoles, vaselina, manteca de cacao y lo similar. Las formulaciones parea la administración intranasal pueden ser sólidas y contener como excipientes, por ejemplo, lactosa o pueden ser soluciones acuosas u oleosas de gotas nasales. Para la administración bucal los excipientes incluyen azúcares, esterarato de calcio, estearato de magnesio, almidón pregelatinizado, y lo similar (Patente de E.U.A. No. 5,849,695).

Formulaciones orales y administración

Las formulaciones para la administración oral se basan en la coadministración de coadyuvantes (por ejemplo, resorcinoles y tensioactivos no iónicos, tales como éter de polioxietilen oleilo y éter de n-hexadecilpolietileno), para incrementar artificialmente la permeabilidad de las paredes intestinales, así como la coadministración de inhibidores enzimáticos (por ejemplo, inhibidores pancreáticos de la tripsina, fluorofosfato de diisopropilo (DFF) y trasilol), para inhibir la degradación enzimática. El compuesto constituyente activo de la forma de dosificación del tipo sólido para la administración oral puede mezclarse con al menos un aditivo, incluyendo sucrosa, lactosa, celulosa, manitol, trehalosa, rafinosa, maltitol, dextrano, almidones, agar, arginatos, quitinas, quitosanas, pectinas, goma tragacanto,

goma arábica, gelatina, colágeno, caseína, albúmina, polímero sintético o semisintético, y glicérido. Estas formas de dosificación también pueden contener otros tipos de aditivos, por ejemplo, un agente diluyente inactivo, lubricantes tales como estearato de magnesio, parabeno, agentes conservadores tales como ácido sórbico, ácido ascórbico, alfa-tocoferol, antioxidantes tales como cisteína, desintegradotes, aglutinantes, espesantes, agentes amortiguadores, agentes edulcorantes, agentes saborizantes, agentes perfumantes, etc.

Las tabletas y píldoras pueden procesarse además en preparaciones con recubrimiento entérico. Las preparaciones líquidas para la administración oral incluyen preparaciones en emulsión, jarabe, elixir, suspensión y solución, que permiten el uso médico. Estas preparaciones pueden contener agentes diluyentes inactivos utilizados ordinariamente en el campo, por ejemplo, agua. Los liposomas también se han descrito como sistemas de suministro del fármaco para la insulina y la heparina (Patente de E.U.A. No. 4,239,754). Más recientemente, se han utilizado microesferas de polímeros artificiales de aminoácidos mezclados (proteinoides) para suministrar los farmacéuticos (Patente de E.U.A. No. 4,925,673). Además, los compuestos portadores descritos en la Patente de E.U.A. No. 5,879,681 y la Patente de E.U.A. No. 5,5,871,753, se utilizan para suministrar agentes biológicamente activos, oralmente, como se conoce en la técnica.

Formulaciones transdérmicas y administración

Para la administración transdérmica, el al menos un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada se encapsula en dispositivos de suministro tales como nanopartículas de liposoma o poliméricas, micropartículas microcápsulas o microesferas (referidas colectivamente como micropartículas, a menos que se indique de otra manera). Se conocen varios dispositivos adecuados, incluyendo micropartículas hechas de polímeros sintéticos tales como polihidroxi ácidos tales como ácido poliláctico, ácido poliglicólico y copolímeros de los mismos, poliortoésteres, polianhídridos y polifosfacenos, y polímeros naturales tales como colágeno, poliaminoácidos, albúmina y otras proteínas, alginato y otros polisacáridos y combinaciones de los mismos (Patente de E.U.A. No. 5,814,599).

Administración prolongada y formulaciones

Puede ser deseable algunas veces suministrar los compuestos de la presente invención al sujeto durante periodos de tiempo prolongados, por ejemplo, durante periodos de una semana a un año a partir de una sola administración. Pueden utilizarse varias formas de dosificación de liberación lenta, de depósito o implante. Por ejemplo, una forma de dosificación puede contener una sal no tóxica farmacéuticamente aceptable del compuesto que tiene un bajo grado de solubilidad en fluidos corporales, por ejemplo, (a) una sal de adición de ácido con un ácido polibásico tal como ácido fosfórico, ácido

sulfúrico, ácido cítrico, ácido tartárico, ácido tánico ácido pamoico, ácido algínico, ácido poliglutámico, ácidos naftalen mono o disulfónicos, ácido poligalacturónico y lo similar; (b) una sal con un catión metálico polivalente, tal como zinc, calcio, bismuto, bario, magnesio, aluminio, cobre, cobalto, níquel, cadmio y lo similar, o con un catión orgánico formado de por ejemplo, N,N'-dibencil-etilendiamina o etilendiamina; o (c) combinaciones de (a) y (b), por ejemplo, una sal de tanato de zinc. Adicionalmente, los compuestos de la presente invención o, de manera preferida, una sal relativamente insoluble tal como aquellas apenas descritas, puede formularse en un gel, por ejemplo, un gel de monoestearato de aluminio con, por ejemplo, aceite de sésamo, adecuado para la inyección. Las sales particularmente preferidas son sales de zinc, sales de tanato de zinc, sales de pamoato y lo similar. Otro tipo de formulación de depósito de liberación lenta para la inyección contendría el compuesto o la sal disperso para encapsularse en un polímero de degradación lenta, no tóxico, no antigénico, tal como un polímero de ácido poliláctico/ácido poliglicólico, por ejemplo, como se describe en la Patente de E.U.A. No. 3,773,919. Los compuestos o, de manera preferida, las sales relativamente insolubles tales como aquellas descritas anteriormente, también pueden formularse en gránulos silásticos de matriz de colesterol, particularmente para utilizarse en animales. Además, las formulaciones de liberación lenta, de depósito o de implante adicionales, por ejemplo, liposomas gaseosos o líquidos se conocen en la literatura (Patente de E.U.A. No.

5,770,222 y "Sistemas de Suministro de Fármaco de Liberación Sostenida y Controlada", J. R. Robinson ed., Marcel Dekker, Inc., N. Y., 1978).

Habiendo descrito generalmente la invención, la misma se entenderá más fácilmente con referencia a los siguientes ejemplos, los cuales se proporcionan a manera de ilustración y no pretenden ser limitantes.

EJEMPLO 1

Clonación y expresión de un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO en células de mamífero

Un vector de expresión de mamífero típico contiene al menos un elemento promotor, el cual media el inicio de la transcripción del ARNm, la secuencia codificante del mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada, y las señales requeridas para la terminación de la transcripción y poliadenilación del transcripto. Los elementos adicionales incluyen mejoradores, secuencias de Kozak y secuencias intervinientes flanqueadas por sitios donadores y aceptores para el empalme del ARN. Una transcripción altamente eficiente puede lograrse con los promotores tempranos y tardíos para SV40, las repeticiones de terminal larga (LTRS) de Retrovirus, por ejemplo, RSV, HTLVI, HIVI y el promotor temprano del citomegalovirus (CMV). Sin embargo, los elementos celulares también pueden utilizarse (por ejemplo, promotor de la actina humana). Los vectores de expresión adecuados para utilizarse en la

práctica de la presente invención incluyen, por ejemplo, vectores tales como pIRES1neo, pRetro-Off, pRetro-On, PLXSN o pLNCX (Clonetech Labs, Palo Alto, CA), pADNc3.1 (+/-), pADNc/Zeo (+/-) o pADNc3.1/Hygro (+/-) (Invitrogen), PSVL y PMSG (Pharmacia, Uppsala, Suecia), pRSVcat (ATCC 37152), pSV2dhfr (ATCC 37146) y pBC12MI (ATCC 67109). Las células hospederas de mamífero que pueden utilizarse, incluyen células Hela 293, H9 y Jurkat humanas, células NIH3T3 y C127 de ratón, células Cos 1, Cos 7 y CV 1, células QC1-3 de codorniz, células L de ratón y de ovario de hámster Chino (CHO).

De manera alterna, el gen puede expresarse en líneas celulares estables que contienen el gen integrado en un cromosoma. La cotransfección con un marcador seleccionable tal como dhfr, gpt, neomicina o higromicina, permite la identificación y aislamiento de las células transfectadas.

El gen transfectado también puede amplificarse para expresar grandes cantidades del mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO codificado o una porción o variante especificada. El marcador DHFR (dihidrofolato reductasa) es útil para desarrollar líneas celulares que portan varios cientos o incluso varios miles de copias del gen de interés. Otro marcador de selección útil es la enzima glutamina sintasa (GS) (Murphy, et al., Biochem. J. 227:277-279 (1991); Bebbington, et al., Bio/Technology 10:169-175 (1992)). Utilizando estos marcadores, las células de mamífero se cultivan en un medio selectivo y las células con la resistencia más alta se seleccionan. Estas líneas celulares contienen los genes amplificados integrados en un

cromosoma. Las células de ovario de hámster Chino (CHO) y NSO se utilizan con frecuencia para la producción de los mimeticuerpos centrales de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificadas.

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

Clonación y expresión en células CHO

El vector pC4 se utiliza para la expresión del mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada. El plásmido pC4 es un derivado del plásmido pSV2-dhfr (No. de Acceso ATCC 37146). El plásmido contiene el gen DHFR de ratón bajo el control del promotor temprano de SV40. Las células de ovario de hámster Chino u otras células que carecen de la actividad de dihidrofolato que se transfectan con estos plásmidos, pueden seleccionarse cultivando las células en un medio selectivo (por ejemplo, alfa menos MEM, Life Technologies, Gaithersburg, MD), suplementaron con el agente quimioterapéutico metotrexato. La amplificación de los genes DHFR en las células resistentes al metotrexato (MTX), se ha documentado bien (véase, por ejemplo, F. W. Alt, et

al., J. Biol. Chem. 253:1357-1370 (1978); J. L. Hamlin y C. Ma, Biochem. et Biophys. Acta 1097:107-143 (1990); y M. J. Page y M. A. Sydenham, Biotechnology 9:64-68 (1991)). Las células que se cultivan en concentraciones que se incrementan de MTX, desarrollan resistencia al fármaco sobreproduciendo la enzima objetivo, DHFR, como resultado de la amplificación del gen DHFR. Si un segundo gen se enlaza al gen DHFR, está usualmente coamplificado y sobreexpresado. Se conoce en la técnica que este procedimiento puede utilizarse para desarrollar líneas celulares que portan más de 1,000 copias de los genes amplificados. Posteriormente, cuando el metotrexato se extrae, se obtienen líneas celulares que contienen el gen amplificado integrado en uno o más cromosomas de la célula hospedera.

El plásmido pC4 contiene para expresar el gen de interés, el promotor fuerte de la repetición de terminal larga (LTR) del Virus del Sarcoma de Rous (Cullen, et al., Molec. Cell. Biol. 5:438- 447 (1985)), más un fragmento aislado del mejorador del gen temprano inmediato del citomegalovirus humano (CMV) (Boshart, et al., Cell 41:521-530 (1985)). Corriente abajo del promotor están BamHI, Xbal y Asp718, los sitios de escisión de la enzima de restricción que permiten la integración de los genes. Detrás de estos sitios de clonación, el plásmido contiene el intrón 3' y el sitio de poliadenilación del gen de preproinsulina de rata. Otros promotores de alta eficiencia también pueden utilizarse para la expresión, por ejemplo, el promotor de β-actina humana, los promotores tempranos o tardíos de SV40 o las repeticiones de terminal larga de otros retrovirus, por ejemplo, VIH y

HTLVI. Los sistemas de expresión del gen Tet-Off y Tet-On de Clontech y los sistemas similares pueden utilizarse para expresar la EPO de una manera regulada en células de mamífero (M. Gossen, y H. Bujard, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:5547-5551 (1992)). Para la poliadenilación del ARNm, pueden utilizarse también otras señales, por ejemplo, de los genes de la hormona del crecimiento o de globina humana. Las líneas celulares estables que portan un gen de interés integrado en los cromosomas también pueden seleccionarse tras la contrafección con marcadores seleccionables tales como gpt, G418 o higromicina. Es ventajoso utilizar más de un marcador seleccionable al inicio, por ejemplo, G418 más metotrexato.

El plásmido pC4 se digiere con las enzimas de restricción y a continuación se desfosforilan utilizando fosfatasa intestinal de becerro mediante procedimientos conocidos en la técnica. El vector se aísla a continuación de un gel de agarosa al 1%.

La secuencia de ADN que codifica el mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o una porción o variante especificada se utiliza, que corresponde a las regiones variables HC y LC de un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO de la presente invención, de acuerdo con los pasos del método conocido. El ácido nucleico aislado que codifica una región constante humana adecuada (es decir, las regiones HC y LC), se utiliza también en este constructo.

La región variable y constante aislada que codifica el ADN y el vector desfosforilado se ligan a continuación con ADN ligasa T4. Las células

de E. coli HB101 o XL-1 Blue se transforman a continuación y las bacterias se identifican como que contienen el fragmento insertado en el plásmido pC4 utilizando, por ejemplo, análisis de enzimas de restricción.

Las células de ovario de hámster chino (CHO) que carecen de un gen DHFR activo se utilizan para la transfección. 5 μg del plásmido de expresión pC4 se contransfectan con 0.5 μg del plásmido pSV2-neo utilizando lipofectina. El plásmido pSV2neo contiene un marcador seleccionable dominante, el gen neo de Tn5 que codifica una enzima que confiere resistencia a un grupo de antibióticos, incluyendo G418. Las células se siembran en alfa menos MEM suplementado con 1 μg/ml de G418. Después de 2 días, las células se triptinizan y se siembran en placas de clonación del hibridoma (Greiner, Alemania) en alfa menos MEM suplementado con 10, 25 ó 50 ng/ml de metotrexato más 1 μg/ml de G418. Después de aproximadamente 10-14 días, las clonas sencillas se triptinizan y se siembran en cajas de Petri de 6 pozos o en matraces de 10 ml utilizando diferentes concentraciones de metotrexato (50 nM, 100 nM, 200 nM, 400 nM, 800 nM). Las clonas que crecen a las concentraciones más altas de metotrexato se transfieren a nuevas placas de 6 pozos que contienen concentraciones aún mayores de metotrexato (1 mM, 2 mM, 5 mM, 10 mM, 20 mM). El mismo procedimiento se repite hasta que se obtienen clonas que crecen a una concentración de 100-200 mM. La expresión del producto del gen deseado se analiza, por ejemplo, mediante SDS-PAGE y Western blot o mediante análisis por HPLC en fase inversa.

EJEMPLO 2

Ejemplo no limitante de un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO de la invención

Antecedentes

El EMP-1 (péptido mimético de la EPO-1) es un péptido de 20 aminoácidos sin homología con la secuencia de la eritropoyetina humana (HuEPO), pero con la capacidad (como un dímero) de activar el receptor de la EPO (Wrighton et al, 1996, Science, vol. 273,458-463). Sin embargo, su actividad relativamente baja (10,000 a 100,000 veces menor que la HuEPO) y su vida media corta (vida media ex-vivo de 8 horas en suero al 50%, vida media in vivo desconocida), compromete su utilidad como un agente terapéutico. Por lo tanto, se necesita una manera para conferir al péptido una vida media más larga, sin perturbar, y posiblemente, mejorando su potencia. Para este fin, se han hecho varios intentos para incrementar la actividad del EMP-1 estabilizando la dimerización del péptido o incorporando el péptido en estructuras mayores para incrementar la vida media. Wrighten et al. (1997, Nature Biotechnology, vol. 15,1261-65) EMP-1 marcado con biotina combinada con estreptavidina para estabilizar la dimerización. Observaron un incremento de 100 veces en la actividad en un ensayo de proliferación celular in vitro. También utilizaron anticuerpo de anti-biotina para estabilizar el dímero peptídico, sin embargo, sólo se observó un incremento de 10 veces en la actividad. Los mismos autores prepararon una forma dimérica definida

químicamente del EMP-1. En este caso se observó un incremento de 100 veces en la actividad in vivo. Otro grupo buscó mejorar la actividad del EMP-1 a través de un enlace covalente al polietilenglicol (PEG) (Johnson et al., 1997, Chem. & Bio., vol. 4(12), 939-50). Reportaron un incremento en la potencia de hasta 1000 veces, sin embargo, se encontró que el constructo es inmunogénico en ratones (los anticuerpos se dirigieron al péptido) (Dana Johnson, Comunicaciones personales). Kuai et al. (2000, J. Peptide Res., vol. 56,59-62) insertó el péptido EMP-1 en la secuencia del inhibidor-1 del activador del plasminógeno (PAI-1). Se pensó que la inserción de EMP-1 en esta estructura estabilizaría la dimerización e incrementaría la vida media. En un ensayo in vivo, se observó que la potencia de este constructo era significativamente mayor, tal como más que 2500 veces mayor que el EMP-1 solo. Debe notarse que se utilizaron diferentes ensayos in vitro y modelos in vivo en estos estudios, y las potencias reportadas pueden no ser comparables con cada resultado u otros resultados presentados aquí.

Mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO de la presente invención

Un ejemplo específico, no limitante de esta invención, es el constructo de EMP-mimético central de la región de bisagra, en donde V es el primero de varios aminoácidos N-terminales de un anticuerpo HC o LC natural, P es una sola copia del péptido EMP-1 bioactivo y L es una repetición en cascada del enlazante flexible Gly-Ser o Gly-Gly-Gly-Ser, H es una región

central de la bisagra y CH2 y CH3 son las subclases del isotipo de IgG1 o de IgG4. Se piensa que esta estructura restringirá el péptido EMP-1, pero permitirá suficiente flexibilidad de manera que la dimerización de los péptidos como parte del homodímero montado está estabilizada. Para apoyar esto, la actividad del EMP-mimeticuerpo central de la región de bisagra en un ensayo de proliferación celular in vitro, es más que 500 veces mayor que la del péptido EMP-1 y sólo sustancialmente similar a la HuEPO recombinante (rHuEPO). Además, se espera que la vida media de este constructo sea muchas veces aquélla de la rHuEPO o del péptido EMP-1 solo y similar a la de una IgG. De manera consistente, los ratones normales tratados con el EMP-mimeticuerpo central de la región de bisagra alcanzan un hematocrito máximo significativamente más alto en comparación con los ratones tratados con rHuEPO, cuando se dan unidades de actividad iguales, y los niveles elevados se mantienen durante un periodo más largo. Este constructo es secretado de manera eficiente de las células y parece estar plegado de manera apropiada; superando los problemas asociados con los mimeticuerpos de la 1a generación.

Además de la estructura básica descrita anteriormente, se describen variantes con características biológicas potencialmente favorables. Estas incluyen constructos que pueden tener una tendencia disminuida a autoasociarse, funciones efectoras inmunes reducidas o una inmunogenicidad disminuida. Otras modificaciones que confieren las características deseadas tales como la conformación del péptido biológicamente activo, y la

transferencia a través de la barrera sangre-cerebro, también se consideran. Las variantes y modificaciones propuestas pueden combinarse de cualquier manera para proporcionar constructos con las actividades deseadas.

Utilizando los métodos de ADN recombinante, el péptido EMP-1 se insertó en un vector intermedio entre un péptido de la señal de la inmunoglobulina y una secuencia J humana. Esto se hizo utilizando los oligonucleótidos sintéticos complementarios con extremos compatibles con los sitios de restricción presentes en el vector. Estos oligonucleótidos comprenden secuencias codificantes para el sitio de consenso de la peptidasa de la señal (QIQ), el péptido EMP-1 (SEQ ID NO: 2), y un enlazante flexible compuesto de GS o GGGS. Un fragmento de restricción que contiene los elementos funcionales mencionados anteriormente se transfirió entonces a un vector de expresión. Este vector contenía un promotor y un mejorador de la inmunoglobulina anti-CD4, y la secuencia codificante para una secuencia central de la región de bisagra de la IgG1 humana, y una porción de una región central de la bisagra de IgG1, CPPCP (109-113 de la SEQ ID NO: 66, como se muestra en la Figura 36C), una región constante HC 2 (CH2) y una región constante 3 (CH3), así como los elementos necesarios para la replicación del plásmido y la selección en las bacterias y la selección de expresores estables en células de mamífero.

Este plásmido se linealizó y se introdujo en la línea celular de mieloma de ratón NSO vía electroporación. Las células resistentes se seleccionaron y los expresores altos de EMP-mimeticuerpo central de la

región de bisagra, se identificaron mediante ensayo ELISA de los sobrenadantes del cultivo. La purificación del constructo de los sobrenadantes del cultivo celular se logró mediante cromatografía por afinidad de la proteína A estándar. El paso del producto purificado a través de geles de poliacrilamida que contienen SDS bajo condiciones de desnaturalización y de reducción, confirmó el tamaño esperado del producto purificado. La identidad de la proteína purificada se confirmó además mediante espectrometría de masas y secuenciamiento N terminal.

Las secuencias de amino ácido de EMP-mimeticuerpos centrales de la región de bisagra se muestran a continuación. Los dominios funcionales se indican por encima de la secuencia que codifica el péptido. La secuencia de consenso del péptido de la señal de tres aminoácidos corresponde a los primeros tres aminoácidos de una inmunoglobulina natural. Se piensa que estos aminoácidos contribuyen a la eliminación eficiente del péptido de la señal por la peptidasa de la señal en el retículo endoplásmico. Esta secuencia es seguida inmediatamente por la secuencia que codifica al EMP-1. Los dos aminoácidos C-terminales de la secuencia del EMP-1 combinados con los siguientes seis aminoácidos, forman un enlazante flexible caracterizado por la repetición Gly-Gly-Gly-Ser. Una secuencia de la región de unión (J) humana sigue después. Se piensa que la secuencia J proporcionará incluso más flexibilidad para permitir que el dímero EMP-1 adopte la conformación apropiada, y permite que el dímero sobresalga de la estructura globular de la inmunoglobulina y penetra en el hueco entre los dos

receptores de la EPO. La región de bisagra HC también está incluida en el constructo inmediatamente después de la región J. Hay tres cisteínas en la región de bisagra de IgG1 (resaltada). La primera se aparearía normalmente con la cadena ligera (LC) de la inmunoglobulina y las segundas dos participarían en enlaces intercadena entre dos HC. El resto de la secuencia está compuesto de las regiones CH2 y CH3, que constituyen el volumen de la proteína. Una de las razones por las que se cree que las inmunoglobulinas tienen una vida media en suero larga, es su capacidad para unirse a FcRn que extiende la vida media en suero, regresando la inmunoglobulina pinocitosada nuevamente al espacio extracelular. Este sitio de unión de FcRn se superpone a la unión de las regiones CH2 y CH3 (Sheilds et al, 2001, J. Biol. Chem., vol. 276 (9), 6591-6604).

La secuencia peptídica de EMP-mimeticuerpo central de la región de bisagra, muestra importantes dominios funcionales.

V Péptido EMP-1 Bisagra Enlanzate IgG1 CH2

1 QIQGGTYSCHFGPLTWVCKPQGG GS CPPCP APELLGGP

IgG1 CH2———————————————————————————

61SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS

———————————————————————————— IgG1 CH3

122TYRWSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL

IgG1 CH3

183TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ

IgG1 CH3

241 QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 82)

V Péptido EMP-1 Bisagra Enlanzate IgG1 CH2

1 QIQGGTYSCHFGPLTWVCKPQGG GGGS CPPCP APELLGGP

IgG1 CH2———————————————————————————————

61SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS

——————————————————————————————— IgG1 CH3

122TYRWSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL

. IgG1 CH3

183TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ

IgG1 CH3

241 QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 83)

V Péptido EMP-1 Bisagra Enlanzate IgG1 CH2

1 QIQGGTYSCHFGPLTWVCKPQGG GSGGGS CPPCP APELLGGP

IgG1 CH2———————————————————————————————

61SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCWVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS

——————————————————————————————— IgG1 CH3

122TYRWSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL

IgG1 CH3

183TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ

IgG1 CH3

241 QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 84)

V Péptido EMP-1 Bisagra Enlanzate IgG1 CH2

1 QIQGGTYSCHFGPLTWVCKPQGG GS CPPCP APEAAGGP

IgG1 CH2———————————————————————————————

61SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS

——————————————————————————————— IgG1 CH3

122TYRWSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL

IgG1 CH3

183TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ

IgG1 CH3

241 QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 85)

V Péptido EMP-1 Bisagra Enlanzate IgG1 CH2

1 QIQGGTYSCHFGPLTWVCKPQGG GGGS CPPCP APEAAGGP

IgG1 CH2———————————————————————————

61 SVFLFPP KPKDTLMI SRTPEVTCWVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS

——————————————————————————————— IgG1 CH3

122TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL

IgG1 CH3

183TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ

IgG1 CH3

241 QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 86)

V Péptido EMP-1 Bisagra Enlanzate IgG4 CH2

1 QIQGGTYSCHFGPLTWVCKPQGG GS CPPCP APEFLGGP

IgG4 CH2———————————————————————————

61 SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNS

——————————————————————————————— IgG4 CH3

121 TYRWSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEM

IgG4 CH3

83 TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQ

IgG4 CH3

241 EGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK (SEQ ID NO: 87)

V Péptido EMP-1 Bisagra Enlanzate IgG4 CH2

1 QIQGGTYSCHFGPLTWVCKPQGG GS CPPCP APEAAGGP

IgG 4 CH2————————————————————————

61 SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNS -

————————————————————————————————————IgG4 CH3

121 TYRWSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEM

IgG4 CH3

183 TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQ

IgG4 CH3

241 EGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK (SEQ ID NO: 88)

V Péptido EMP-1 Bisagra Enlanzate IgG4 CH2

1 QIQGGTYSCHFGPLTWVCKPQGG GGGS CPPCP APEAAGGP

IgG1 CH2————————————————————————————

61 SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNS

———————————————————————————— IgG4 CH3

121 TYRWSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEM

IgG4 CH3

183 TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQ

IgG4 CH3

241 EGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK (SEQ ID NO: 89)

Es bien conocido que dos cadenas pesadas de IgG se montan durante el procesamiento celular vía enlaces de disulfuro entre las cisteínas localizadas en la región de bisagra para formar un homodímero. Se espera que esto también ocurra entre los péptidos modificados para formar el constructo montado de EMP-mimeticuerpo central de la región de bisagra.

Además, se espera que el enlace disulfuro intracadena entre las dos cisteínas en el péptido EMP-1 también se forme. La estructura esperada de EMP-mimeticuerpo central de la región de bisagra contenga dos péptidos EMP-1. El arreglo espacial de los péptidos en el término N junto con la flexibilidad de las secuencias que se unen, deberá permitir que los péptidos formen un dímero bioactivo.

La actividad del EMP-mimeticuerpo central de la región de la bisagra se probó primero en un ensayo de bioactividad in vitro. Para este ensayo, se utilizó la línea celular UT-7/EPO dependiente de la EPO, derivada de un paciente con leucemia megacarioblástica aguda (Komatsu et al., 1993, Blood, vol. 82 (2), 456- 464). Estas células experimentan la muerta celular programada de 48 a 72 horas después de la extracción del medio suplementado con rHuEPO. Las células que se han incubado en la ausencia de rHuEPO durante 24 horas, pueden guardarse si se tratan con rHuEPO o un agonista de la EPO. El EMP-mimeticuerpo central de la región de bisagra se agregó a las células sin alimento sin rHuEPO y la viabilidad celular se determinó 48 horas después del tratamiento utilizando el compuesto de tetrazolio MTS (CellTiter 96 Aq_{ueous} One Solution, Promega) que se metaboliza por las células vivientes para proporcionar un producto con una absorbancia que puede medirse. Los resultados de un ensayo típico mostraron que la potencia de un EMP-mimeticuerpo central de la región de bisagra en una base molar es de 500 veces mayor que la del péptido EMP-1 y 5 veces menor que la de la rHuEPO. Además, estas mismas células se estimularon con EMP-

mimeticuerpo central de la región de bisagra y los patrones de fosforilación con tirosina se visualizaron corriendo el lisado celular a través de un gel de poliacrilamida. El patrón exhibido por EMP-mimeticuerpo central de la región de bisagra fue similar a aquél de la rHuEPO, indicando que el mecanismo mediante el cual el EMP-mimeticuerpo central de la región de bisagra actúa en estas células, es similar al de la rHuEPO.

Los estudios in vivo se hicieron en ratones normales para comparar la vida media del EMP-mimeticuerpo central de la región de la bisagra con la de la rHuEPO y para comparar sus efectos en la eritropoyesis. Cuando los ratones se dosificaron igualmente, el EMP-mimeticuerpo central de la región de la bisagra dio una respuesta máxima más alta y la respuesta fue prolongada, en comparación con la rHuEPO.

Las concentraciones en suero de la rHuEPO y el EMP-mimeticuerpo central de la región de la bisagra se midieron mediante ELISA. La vida media aproximada del EMP-mimeticuerpo central de la región de bisagra fue al menos varias veces la de la rHuEPO.

Se ha mostrado que la mutación de dos residuos de lisina (L), L234 y L235, en la región de bisagra inferior de IgG1 a alanina (A), anulará la capacidad de la inmunoglobulina para mediar la citotoxicidad dependiente del complemento (CDC) y la toxicidad celular dependiente del anticuerpo (ADCC) (Hezereh et al., 2001, J. Virol., vol. 75 (24), 12161-68). Los estudios preliminares han mostrado que el EMP-mimeticuerpo central de la región de la bisagra no media la lisis del complemento de las células que expresan el

receptor de la EPO. Esto puede deberse al bajo número de receptores que se encuentran en las células progenitoras eritroides. Además, la expansión in vivo de los progenitores eritroides como se evidencia por los incrementos significativos en el hematocrito, apoya la posible irrelevancia funcional de las funciones del efector inmune. Sin embargo, aunque no se han observado efectos asociados con la función del efector, queda un interés de introducir mutaciones como un paso de precaución.

Otra modificación que resultaría en una disminución en la mediación de las funciones del efector inmune es la eliminación del sitio de unión de la glucosilación. Esto puede lograrse por la mutación de la asparagina en la posición 297 (N297) a glutamina (Q). Los cambios adicionales pueden incluir opcionalmente la treonina (T) con un aminoácido alterno para reducir o modificar la O-glucosilación, por ejemplo, T34 o T47 con versiones Aglucosiladas de la subclase de IgG1 que se sabe son mediadores deficientes de la función del efector inmune (Jefferis et al. 1998, Immol. Rev., vol. 163,50-76).

Ventajas

El constructo novedoso, EMP-mimeticuerpo central de la región de la bisagra descrito anteriormente ofrece una manera alterna para mostrar el péptido bioactivo EMP-1. La actividad de este constructo está en el intervalo de la rHuEPO y la vida media in vivo es similar a aquélla de una IgG. Además, se espera que las modificaciones propuestas, en combinación y con

la adición a las características novedosas del EMP-mimeticuerpo central de la región de la bisagra, mejoren la utilidad del constructo de EMP-mimeticuerpo central de la región de la bisagra.

Está claro que la invención puede practicarse de otra manera a como se describe particularmente en la descripción y los ejemplos anteriores.

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

NOVEDAD DE LA INVENCION

REIVINDICACIONES

1.- Al menos un ácido nucleico de un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO, que comprende al menos un polinucleótido que codifica al menos una secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NOS: 82 y 84, o un polinucleótido complementario del mismo.

2.- Al menos un ácido nucleico de un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO, que comprende al menos un polinucleótido que codifica al menos una secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NOS: 83 y 85-89, o un polinucleótido complementario del mismo.

3.- Al menos un ácido nucleico de un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO, que comprende al menos un polinucleótido que codifica al menos una secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NOS: 1-30, o un polinucleótido complementario del mismo.

4.- Al menos un ácido nucleico de un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO, que comprende al menos un polinucleótido que codifica un polipéptido de acuerdo con la Fórmula (I): ((V(m)-P(n)-L(o)-H(p)-CH2(q)-CH3(r))(s), en donde V es al menos una porción de un término N de una región variable de inmunoglobulina, P es al menos un péptido mimético de la EPO bioactivo, L es una secuencia enlazante, H es al menos una porción de una región variable central de la bisagra de

inmunoglobulina, CH2 es al menos una porción de una región constante CH2 de inmunoglobulina, CH3 es al menos una porción de una región constante CH3 de inmunoglobulina, m, n, o, p, q, r y s pueden ser de manera independiente un entero entre 0, 1 ó 2 y 10.

5.- Al menos un polipéptido de un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO, que comprende al menos todos los aminoácidos contiguos de al menos una de las SEQ ID NO: 82 y 84.

6.- Al menos un polipéptido de un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO, que comprende al menos todos los aminoácidos contiguos de al menos una de las SEQ ID NO: 83 y 85-89.

7.- Al menos un polipéptido de un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO, que comprende al menos todos los aminoácidos contiguos de al menos una de las SEQ ID NOS: 1-30.

8.- Al menos un polipéptido de un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO, que comprende un polipéptido de acuerdo con la Fórmula (I): ((V(m)-P(n)-L(o)-H(p)-CH2(q)-CH3(r))(s), en donde V es QIQ, P es al menos un péptido bioactivo seleccionado de las SEQ ID NOS: 1-30, L comprende GS, GGGS (SEQ ID NO: 73) o GSGGGS (SEQ ID NO: 74), H es CPPCP (SEQ ID NO: 75), CH2 es APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAK (SEQ ID NO: 76), CH3 es GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY

KTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSPGK (SEQ ID NO: 78), y m, n, o, p, q, r, s son de manera independiente un entero entre 0, 1 ó 2 y 10.

9.- Al menos un polipéptido de un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO, que comprende un polipéptido de acuerdo con la Fórmula (I): ((V(m)-P(n)-L(o)-H(p)-CH2(q)-CH3(r))(s), en donde V es QIQ, P es al menos un péptido bioactivo seleccionado de las SEQ ID NOS: 1-30, L comprende GS, GGGS (SEQ ID NO: 73) o GSGGGS (SEQ ID NO: 74), H es CPPCP (SEQ ID NO: 75), CH2 es APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAK (SEQ ID NO: 77), CH3 es GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSPGK (SEQ ID NO: 78), y m, n, o, p, q, r, s son de manera independiente un entero entre 0, 1 ó 2 y 10.

10.- Al menos un polipéptido de un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO, que comprende un polipéptido de acuerdo con la Fórmula (I): ((V(m)-P(n)-L(o)-H(p)-CH2(q)-CH3(r))(s), en donde V es QIQ, P es al menos un péptido bioactivo seleccionado de las SEQ ID NOS: 1-30, L comprende GS, GGGS (SEQ ID NO: 73) o GSGGGS (SEQ ID NO: 74), H es CPPCP (SEQ ID NO: 75), CH2 es APEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDG

EVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEK TISKAK (SEQ ID NO: 79), CH3 es GQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSLGK (SEQ ID NO: 81), y m, n, o, p, q, r, s son de manera independiente un entero entre 0, 1 ó 2 y 10.

11.- Al menos un polipéptido de un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO, que comprende un polipéptido de acuerdo con la Fórmula (I): ((V(m)-P(n)-L(o)-H(p)-CH2(q)-CH3(r))(s), en donde V es QIQ, P es al menos un péptido bioactivo seleccionado de las SEQ ID NOS: 1-30, L comprende GS, GGGS (SEQ ID NO: 73) o GSGGGS (SEQ ID NO: 74), H es CPPCP (SEQ ID NO: 75), CH2 es APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIE KTISKAK (SEQ ID NO: 80), CH3 es GQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSLGK (SEQ ID NO: 81), y m, n, o, p, q, r, s son de manera independiente un entero entre 0, 1 ó 2 y 10.

12.- Al menos un polipéptido de un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO, que comprende un polipéptido de acuerdo con la Fórmula (I): ((V(m)-P(n)-L(o)-H(p)-CH2(q)-CH3(r))(s), en donde V es un porción N terminal de una región variable humana, P es al menos un

péptido bioactivo seleccionado de las SEQ ID NOS: 1-30, L es un polipéptido enlazante, H es al menos una porción de una región variable central de la bisagra de inmunoglobulina, CH2 es APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAK (SEQ ID NO: 76), CH3 es GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSPGK (SEQ ID NO: 78), y m, n, o, p, q, r, s son de manera independiente un entero entre 0, 1 ó 2 y 10.

13.- Al menos un polipéptido de un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO, que comprende un polipéptido de acuerdo con la Fórmula (I): ((V(m)-P(n)-L(o)-H(p)-CH2(q)-CH3(r))(s), en donde V es un porción N terminal de una región variable humana, P es al menos un péptido bioactivo seleccionado de las SEQ ID NOS: 1-30, L es un polipéptido enlazante, H es al menos una porción de una región variable central de la bisagra de inmunoglobulina, CH2 es APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAK (SEQ ID NO: 77), CH3 es GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS

LSPGK (SEQ ID NO: 78), y m, n, o, p, q, r, s son de manera independiente un entero entre 0, 1 ó 2 y 10.

14.- Al menos un polipéptido de un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO, que comprende un polipéptido de acuerdo con la Fórmula (I): ((V(m)-P(n)-L(o)-H(p)-CH2(q)-CH3(r))(s), en donde V es un porción N terminal de una región variable humana, P es al menos un péptido bioactivo seleccionado de las SEQ ID NOS: 1-30, L es un polipéptido enlazante, H es al menos una porción de una región variable central de la bisagra de inmunoglobulina, CH2 s APEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIE KTISKAK (SEQ ID NO: 79), CH3 es GQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSLGK (SEQ ID NO: 81), y m, n, o, p, q, r, s son de manera independiente un entero entre 0, 1 ó 2 y 10.

15.- Al menos un polipéptido de un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO, que comprende un polipéptido de acuerdo con la Fórmula (I): ((V(m)-P(n)-L(o)-H(p)-CH2(q)-CH3(r))(s), en donde V es un porción N terminal de una región variable humana, P es al menos un péptido bioactivo seleccionado de las SEQ ID NOS: 1-30, L es un polipéptido enlazante, H es al menos una porción de una región variable central de la bisagra de inmunoglobulina, CH2 es

APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIE KTISKAK (SEQ ID NO: 80), CH3 es GQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSLGK (SEQ ID NO: 81), y m, n, o, p, q, r, s son de manera independiente un entero entre 0, 1 ó 2 y 10.

16.- Al menos un polipéptido de un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO, que comprende un polipéptido de acuerdo con la Fórmula (I): ((V(m)-P(n)-L(o)-H(p)-CH2(q)-CH3(r))(s), en donde V es QIQ, P es al menos un péptido bioactivo seleccionado de las SEQ ID NOS: 1-30, L es un polipéptido enlazante, H es al menos una porción de una región variable central de la bisagra de inmunoglobulina, CH2 es al menos una porción de una región constante CH2 de inmunoglobulina, CH3 es al menos una porción de una región constante CH3 de inmunoglobulina, y m, n, o, p, q, r, s son de manera independiente un entero entre 0, 1 ó 2 y 10.

17.- Al menos un polipéptido de un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO, que comprende un polipéptido de acuerdo con la Fórmula (I): ((V(m)-P(n)-L(o)-H(p)-CH2(q)-CH3(r))(s), en donde V es al menos una porción de un término N de una región variable de inmunoglobulina, P es al menos un péptido mimético de la EPO bioactivo, L comprende GS, GGGS (SEQ ID NO: 73) o GSGGGS (SEQ ID NO: 74), H es al menos una porción de una región variable central de la bisagra de

inmunoglobulina, CH2 es al menos una porción de una región constante CH2 de inmunoglobulina, CH3 es al menos una porción de una región constante CH3 de inmunoglobulina, y m, n, o, p, q, r, s son de manera independiente un entero entre 0, 1 ó 2 y 10.

18.- Al menos un polipéptido de un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO, que comprende un polipéptido de acuerdo con la Fórmula (I): ((V(m)-P(n)-L(o)-H(p)-CH2(q)-CH3(r))(s), en donde V es al menos una porción de un término N de una región variable de inmunoglobulina, P es al menos un péptido mimético de la EPO bioactivo, L es un polipéptido enlazante, H es al menos una porción de una región variable central de la bisagra de inmunoglobulina, CH2 es al menos una porción de una región constante CH2 de inmunoglobulina, CH3 es al menos una porción de una región constante CH3 de inmunoglobulina, y m, n, o, p, q, r, s son de manera independiente un entero entre 0, 1 ó 2 y 10.

19.- Al menos un polipéptido de un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO, que comprende un polipéptido de acuerdo con la Fórmula (I): ((V(m)-P(n)-L(o)-H(p)-CH2(q)-CH3(r))(s), en donde V es al menos una porción de un término N de una región variable de inmunoglobulina, P es al menos un péptido mimético de la EPO bioactivo, L es un polipéptido enlazante, H es CPPCP (SEQ ID NO: 75), CH2 es al menos una porción de una región constante CH2 de inmunoglobulina, CH3 es al menos una porción de una región constante CH3 de inmunoglobulina, y m, n, o, p, q, r, s son de manera independiente un entero entre 0, 1 ó 2 y 10.

20.- Al menos un polipéptido de un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO, que comprende un polipéptido de acuerdo con la Fórmula (I): ((V(m)-P(n)-L(o)-H(p)-CH2(q)-CH3(r))(s), en donde V es al menos una porción de un término N de una región variable de inmunoglobulina, P es al menos un péptido bioactivo seleccionado de las SEQ ID NOS: 1-30, L es un polipéptido enlazante, H es al menos una porción de una región variable central de la bisagra de inmunoglobulina, CH2 es al menos una porción de una región constante CH2 de inmunoglobulina, CH3 es al menos una porción de una región constante CH3 de inmunoglobulina, y m, n, o, p, q, r, s son de manera independiente un entero entre 0, 1 ó 2 y 10.

21.- Un ácido nucleico de un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o un polipéptido de un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO, de conformidad con al menos una de las reivindicaciones 1-20, en donde el polipéptido tiene al menos una actividad de al menos un polipéptido P.

22.- Un anticuerpo monoclonal o policlonal antiidiotipo, proteína de fusión o fragmento de los mismos, que se une específicamente a al menos un polipéptido de un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO, de conformidad con al menos una de las reivindicaciones 5-20.

23.- Un ácido nucleico de un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO, que codifica al menos un polipéptido de un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o un

anticuerpo de un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO, de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1-20.

24.- Un vector de un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO, que comprende al menos un ácido nucleico aislado de conformidad con la reivindicación 23.

25.- Una célula hospedera de un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO, que comprende un ácido nucleico aislado de conformidad con la reivindicación 23.

26.- La célula hospedera de un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO, de conformidad con la reivindicación 23, caracterizada además porque la célula hospedera es al menos una seleccionada de las células COS-1, COS-7, HEK293, BHK21, CHO, BSC-1, Hep G2, 653, SP2/0, 293, NSO, DG44 CHO, CHO K1, HeLa, de mieloma o de linfoma, o cualquier célula derivada, inmortalizada o transformada de las mismas.

27.- Un método para producir al menos un polipéptido de un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o un anticuerpo de un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO, que comprende traducir un ácido nucleico de conformidad con la reivindicación 23 bajo condiciones in vitro, in vivo o in situ, de manera que el mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO o el anticuerpo se expresa en cantidades detectables o recuperables.

28.- Una composición que comprende al menos un ácido nucleico de un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO, un polipéptido de un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO, o un anticuerpo de un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO, de conformidad con al menos una de las reivindicaciones 1-20.

29.- La composición de conformidad con la reivindicación 28, caracterizada además porque la composición comprende además al menos un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable.

30.- La composición de conformidad con la reivindicación 28, caracterizada además porque comprende al menos una composición que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de al menos un compuesto, composición o polipéptido seleccionado de al menos uno de una marca o reportero detectable, un antagonista del TNF, un fármaco antiinfeccioso, un fármaco para el sistema cardiovascular (CV), un fármaco para el sistema nervioso central (CNS), un fármaco para el sistema nervioso autónomo (ANS), un fármaco para el tracto respiratorio, un fármaco para el tracto gastrointestinal (GI), un fármaco hormonal, un fármaco para el equilibrio de los fluidos o electrolítico, un fármaco hematológico, un antineoplásico, un fármaco para la inmunomodulación, un fármaco oftálmico, ótico o nasal, un fármaco tópico, un fármaco nutritivo, una citocina o un antagonista de la citocina.

31.- La composición de conformidad con la reivindicación 28, caracterizada además porque está en una forma de al menos una seleccionada de un líquido, gas o solución, mezcla, suspensión, emulsión o coloide seco, una preparación liofilizada o un polvo.

32.- Un método para diagnosticar o tratar una condición relacionada con el ligando de la EPO en una célula, tejido, órgano o animal, que comprende (a) poner en contacto o administrar una composición que comprende una cantidad efectiva de al menos un ácido nucleico, polipéptido o anticuerpo de un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO, de conformidad con al menos una de las reivindicaciones 1-20, con la célula, tejido, órgano o animal.

33.- El método de conformidad con la reivindicación 32, caracterizado además porque la cantidad efectiva es 0.001-50 mg del anticuerpo del mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO; 0.000001-500 mg del mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO; o 0.0001-100 μg del ácido nucleico del mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO por kilogramo de células, tejido, órgano o animal.

34.- El método de conformidad con la reivindicación 32, caracterizado además porque el contacto o la administración en mediante al menos un modo seleccionado de parenteral, subcutáneo, intramuscular, intravenoso, intraarticular, intrabronquial, intraabdominal, intracapsular, intracartilaginoso, intracavidad, intracelial, intracelebelar,

intracerebroventricular, intracólico, intracervical, intragástrico, intrahepático, intramiocárdico, intraósteo, intrapélvico, intrapericárdico, intraperitoneal, intrapleural, intraprostático, intrapulmonar, intrarrectal, intrarrenal, intrarretinal, intraespinal, intrasinovial, intratorácico, intrauterino, intravesical, intralesional, bolo, vaginal, rectal, bucal, sublingual, intranasal o transdérmico.

35.- El método de conformidad con la reivindicación 32, caracterizado además porque comprende administrar antes, de manera concurrente o después de (a) poner en contacto o administrar, al menos una composición que comprende una cantidad efectiva de al menos un compuesto o polipéptido seleccionado de al menos uno de una marca o reportero detectable, un antagonista del TNF, un fármaco antiinfeccioso, un fármaco para el sistema cardiovascular (CV), un fármaco para el sistema nervioso central (CNS), un fármaco para el sistema nervioso autónomo (ANS), un fármaco para el tracto respiratorio, un fármaco para el tracto gastrointestinal (GI), un fármaco hormonal, un fármaco para el equilibrio de los fluidos o electrolítico, un fármaco hematológico, un antineoplásico, un fármaco para la inmunomodulación, un fármaco oftálmico, ótico o nasal, un fármaco tópico, un fármaco nutritivo, una citocina o un antagonista de la citocina.

36.- Un dispositivo que comprende al menos un polipéptido, anticuerpo o ácido nucleico de un mimeticuerpo aislado central de la región de bisagra mimético de la EPO, de conformidad con al menos una de las reivindicaciones 1-20, en donde el dispositivo es adecuado para poner en contacto o administrar al menos uno del polipéptido, anticuerpo o ácido

nucleico de un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO, mediante al menos un modo seleccionado de parenteral, subcutáneo, intramuscular, intravenoso, intraarticular, intrabronquial, intraabdominal, intracapsular, intracartilaginoso, intracavidad, intracelial, intracelebelar, intracerebroventricular, intracólico, intracervical, intragástrico, intrahepático, intramiocárdico, intraósteo, intrapélvico, intrapericárdico, intraperitoneal, intrapleural, intraprostático, intrapulmonar, intrarrectal, intrarrenal, intrarretinal, intraespinal, intrasinovial, intratorácico, intrauterino, intravesical, intralesional, bolo, vaginal, rectal, bucal, sublingual, intranasal o transdérmico.

37.- Un artículo de fabricación para uso farmacéutico o diagnóstico en humanos, que comprende un material de empaque y un recipiente comprende al menos un polipéptido, anticuerpo o ácido nucleico de un mimeticuerpo aislado central de la región de bisagra mimético de la EPO, de conformidad con al menos una de las reivindicaciones 1-20.

38.- El artículo de fabricación de conformidad con la reivindicación 32, caracterizada además porque el recipiente es un componente de un dispositivo o sistema de suministro parenteral, subcutáneo, intramuscular, intravenoso, intraarticular, intrabronquial, intraabdominal, intracapsular, intracartilaginoso, intracavidad, intracelial, intracelebelar, intracerebroventricular, intracólico, intracervical, intragástrico, intrahepático, intramiocárdico, intraósteo, intrapélvico, intrapericárdico, intraperitoneal, intrapleural, intraprostático, intrapulmonar, intrarrectal, intrarrenal, intrarretinal,

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

39.- Un método para producir al menos un polipéptido, anticuerpo o ácido nucleico de un mimeticuerpo aislado central de la región de bisagra mimético de la EPO, de conformidad con al menos una de las reivindicaciones 1-20, que comprende proporcionar al menos una célula hospedera, animal transgénico, planta transgénica, célula de planta, capaz de expresar en cantidades detectables o recuperables el polipéptido, anticuerpo o ácido nucleico.

40.- Al menos un polipéptido, anticuerpo o ácido nucleico de un mimeticuerpo central de la región de bisagra, mimético de la EPO, producido mediante un método de conformidad con la reivindicación 39.

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> HEAVNER, George A.; KNIGHT, David; GHRAYEB, John; SCALLON, Bernard; NESSPOR, Thomas; HUANG, Chichang

<120> MIMETICUERPOS HUMANOS CENTRALES DE LA REGION DE BISAGRA, MIMETICOS DE LA ERITROPOYETINA, COMPOSICIONES, METODOS Y USOS

<130> CEN5039NP

<140> US/10/935,005
<141> 2004-09-03

<160> 89

<170> Patentin versión 3.3

<210> 1
<211> 14
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> péptido sintético

<220>
<221> característica diversa
<222> (2)..(2)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido en estado natural

<220>
<221> característica diversa
<222> (4)..(4)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido en estado natural

<220>

<221> característica diversa
<222> (5)..(5)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido en estado natural

<220>
<221> característica diversa
<222> (8)..(8)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido en estado natural

<220>
<221> característica diversa
<222> (11)..(11)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido en estado natural

<220>
<221> característica diversa
<222> (13)..(13)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido en estado natural

<400> 1

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

<210> 2
<211> 20
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> péptido sintético

<400> 2

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

Pro Gln Gly Gly
20

<210> 3
<211> 20
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> péptido sintético

<400> 3

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

Pro Leu Gly Gly
20

<210> 4
<211> 20
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> péptido sintético

<400> 4

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

Pro Leu Gly Gly
20

<210> 5
<211> 20
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> péptido sintético

<400> 5

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

Pro Gly Gly Gly
20

<210> 6
<211> 20
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> péptido sintético

<400> 6

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

Tyr Lys Gly Gly
20

<210> 7
<211> 20
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> péptido sintético

<400> 7

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

Pro Gln Gly Gly
20

<210> 8
<211> 23
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> péptido sintético

<400> 8

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

Pro Gln Gly Gly Ser Ser Lys
20

<210> 9
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> péptido sintético

<220>
<221> característica diversa
<222> (2)..(2)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido en estado natural

<220>
<221> característica diversa
<222> (3)..(3)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido en estado natural

<220>
<221> característica diversa
<222> (6)..(6)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido en estado natural

<220>
<221> característica diversa
<222> (9)..(9)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido en estado natural

<400> 9

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

<210> 10
<211> 19
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> péptido sintético

<400> 10

Gly Gly Thr Tyr Ser Cys His Gly Pro Leu Thr Trp Val Cys Lys Pro

1 5 10 15

Gln Gly Gly

<210> 11
<211> 19
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> péptido sintético

<400> 11

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

Pro Gly Gly

<210> 12
<211> 18
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> péptido sintético

<400> 12

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

Ile Cys

<210> 13
<211> 18
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> péptido sintético

<400> 13

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

Pro Gln

<210> 14
<211> 20
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> péptido sintético

<400> 14

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

Pro Leu Arg Gly
20

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

<213> Artificial

<220>
<223> péptido sintético

<400> 15

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

Arg Pro Ser Pro Lys Ala
20

<210> 16
<211> 13
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> péptido sintético

<400> 16

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

<210> 17
<211> 11
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> péptido sintético

<400> 17

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

<210> 18
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> péptido sintético

<220>
<221> característica diversa
<222> (1)..(1)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido en estado natural

<220>
<221> característica diversa
<222> (2)..(2)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido en estado natural

<220>
<221> característica diversa
<222> (3)..(3)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido en estado natural

<220>
<221> característica diversa
<222> (6)..(6)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido en estado natural

<220>
<221> característica diversa
<222> (9)..(9)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido en estado natural

<220>
<221> característica diversa
<222> (10)..(10)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido en estado natural

<400> 18

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

<210> 19
<211> 12
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> péptido sintético

<220>
<221> característica diversa
<222> (2)..(2)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido en estado natural

<220>
<221> característica diversa
<222> (3)..(3)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido en estado natural<220>

<220>
<221> característica diversa
<222> (4)..(4)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido en estado natural<220>

<220>
<221> característica diversa
<222> (5)..(5)

<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido en estado natural<220>

<220>
<221> característica diversa
<222> (8)..(8)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido en estado natural

<220>
<221> característica diversa
<222> (11)..(11)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido en estado natural

<220>
<221> característica diversa
<222> (12)..(12)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido en estado natural

<400> 19

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

<210> 20
<211> 14
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> péptido sintético

<220>
<221> característica diversa
<222> (1)..(1)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido en estado natural

<220>

<221> característica diversa
<222> (3)..(3)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido en estado natural<220>

<220>
<221> característica diversa
<222> (4)..(4)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido en estado natural<220>

<220>
<221> característica diversa
<222> (5)..(5)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido en estado natural<220>

<220>
<221> característica diversa
<222> (6)..(6)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido en estado natural

<220>
<221> característica diversa
<222> (9)..(9)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido en estado natural

<220>
<221> característica diversa
<222> (10)..(10)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido en estado natural

<220>
<221> característica diversa
<222> (11)..(11)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido en estado natural

<220>
<221> característica diversa

<222> (12)..(12)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido en estado natural

<220>
<221> característica diversa
<222> (13)..(13)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido en estado natural

<220>
<221> característica diversa
<222> (14)..(14)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido en estado natural

<400> 20

Xaa Tyr Xaa Xaa Xaa Xaa Gly Pro Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5 10

<210> 21
<211> 18
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> péptido sintético

<220>
<221> característica diversa
<222> (1)..(1)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido en estado natural

<220>
<221> característica diversa
<222> (3)..(3)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido en estado natural

<220>
<221> característica diversa
<222> (5)..(6)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido en estado natural

<220>
<221> característica diversa
<222> (9)..(9)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido en estado natural

<220>
<221> característica diversa
<222> (12)..(12)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido en estado natural

<220>
<221> característica diversa
<222> (14)..(14)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido en estado natural

<220>
<221> característica diversa
<222> (15)..(15)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido en estado natural

<220>
<221> característica diversa
<222> (16)..(16)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido en estado natural

<400> 21

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

Leu Leu

<210> 22
<211> 20
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> péptido sintético

<400> 22

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

Tyr Lys Gly Gly
20

<210> 23
<211> 20
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> péptido sintético

<400> 23

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

Pro Gln Gly Gly
20

<210> 24
<211> 20

<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> péptido sintético

<400> 24

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

Pro Gly Gly Gly
20

<210> 25
<211> 20
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> péptido sintético

<400> 25

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

Pro Leu Gly Gly
20

<210> 26
<211> 22
<212> PRT
<213> Artificial

<220>

<223> péptido sintético

<400> 26

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

Arg Pro Ser Pro Lys Ala
20

<210> 27
<211> 13
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> péptido sintético

<400> 27

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

<210> 28
<211> 11
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> péptido sintético

<400> 28

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

<210> 29
<211> 12
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> péptido sintético

<400> 29

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

<210> 30
<211> 12
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> péptido sintético

<220>
<221> característica diversa
<222> (2)..(2)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido en estado natural

<220>
<221> característica diversa
<222> (3)..(3)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido en estado natural

<220>
<221> característica diversa
<222> (4)..(4)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido en estado natural

<220>
<221> característica diversa
<222> (5)..(5)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido en estado natural

<220>
<221> característica diversa
<222> (8)..(8)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido en estado natural

<220>
<221> característica diversa
<222> (11)..(11)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido en estado natural

<220>
<221> característica diversa
<222> (12)..(12)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido en estado natural

<400> 30

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

<210> 31
<211> 125
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (1)..(125)
<223> región variable de cadena pesada Vh1

<220>

<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (1)..(31)
<223> marco 1

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (32)..(32)
<223> región determinante de complementariedad 1 (CDR1), X es 3-20 (5) de cualquier aminoácido.

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (33)..(46)
<223> marco 2

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (47)..(47)
<223> región determinante de complementariedad 2 (CDR2), X es 10-30 (17) de cualquier aminoácido.

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (48)..(79)
<223> marco 3

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (80)..(80)
<223> región determinante de complementariedad 3 (CDR3), X es 25-55 (42) de cualquier aminoácido.

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (81)..(125)
<223> marco 4

<400> 31

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

Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Xaa
20 25 30

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

Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu
50 55 60

Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Xaa
65 70 75 80

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Ser Thr Lys Gly
85 90 95

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly
100 105 110

Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro
115 120 125

<210> 32
<211> 124
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (1)..(124)
<223> región variable de cadena pesada Vh2

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (1)..(30)
<223> marco 1

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (31)..(31)
<223> región determinante de complementariedad 1 (CDR1), X es 3-20 (7) de cualquier aminoácido.

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (32)..(45)
<223> marco 2

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (46)..(46)
<223> región determinante de complementariedad 2 (CDR2), X es 10-30 (16) de cualquier aminoácido.

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (47)..(78)
<223> marco 3

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (79)..(79)
<223> región determinante de complementariedad 3 (CDR3), X es 15-40 (16) de cualquier aminoácido.

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA

<222> (80)..(124)
<223> marco 4

<400> 32

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

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Xaa Trp
20 25 30

Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu Trp Leu Ala Xaa Arg Leu
35 40 45

Thr Ile Thr Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val Val Leu Thr Met Thr
50 55 60

Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala Arg Xaa Trp
65 70 75 80

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Pro Thr Ser Pro
85 90 95

Lys Val Phe Pro Leu Ser Leu Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
100 105 110

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro
115 120

<210> 33
<211> 100
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA

<222> (1)..(100)
<223> región variable de cadena pesada Vh3a

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (1)..(31)
<223> marco 1

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (32)..(32)
<223> región determinante de complementariedad 1 (CDR1), X es 3-20 (5) de cualquier aminoácido.

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (33)..(46)
<223> marco 2

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (47)..(47)
<223> región determinante de complementariedad 2 (CDR2), X es 10-30 (18) de cualquier aminoácido.

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (48)..(79)
<223> marco 3

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (80)..(80)
<223> región determinante de complementariedad 3 (CDR3), X es 20-40 (31) de cualquier aminoácido.

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (81)..(100)
<223> marco 4

<400> 33

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

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

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

Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met
50 55 60

Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Xaa
65 70 75 80

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Ser Thr Lys Ala
85 90 95

Pro Ser Val Phe
100

<210> 34
<211> 102
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (1)..(102)

<223> región variable de cadena pesada Vh3b

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (1)..(30)
<223> marco 1

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (31)..(31)
<223> región determinante de complementariedad 1 (CDR1), X es 3-20 (5) de cualquier aminoácido.

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (32)..(45)
<223> marco 2

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (46)..(46)
<223> región determinante de complementariedad 2 (CDR2), X es 5-25 (11) de cualquier aminoácido.

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (47)..(78)
<223> marco 3

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (79)..(79)
<223> región determinante de complementariedad 3 (CDR3), X es 15-40 (23) de cualquier aminoácido.

<220>

<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (80)..(102)
<223> marco 4

<400> 34

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Xaa Trp
20 25 30

Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly Xaa Arg Phe
35 40 45

Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn
50 55 60

Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Thr Xaa Trp
65 70 75 80

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
85 90 95

Ser Val Phe Pro Leu Ala
100

<210> 35
<211> 101
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (1)..(101)
<223> región variable de cadena pesada Vh3c

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (1)..(30)
<223> marco 1

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (31)..(31)
<223> región determinante de complementariedad 1 (CDR1), X es 3-20 (5) de cualquier aminoácido.

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (32)..(45)
<223> marco 2

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (46)..(46)
<223> región determinante de complementariedad 2 (CDR2), X es 10-30 (19) de cualquier aminoácido.

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (47)..(79)
<223> marco 3

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (80)..(80)
<223> región determinante de complementariedad 3 (CDR3), X es 15-40 (25) de cualquier aminoácido.

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA

<222> (81)..(101)
<223> marco 4

<400> 35

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr Phe Gly Xaa Trp
20 25 30

Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly Xaa Arg Phe
35 40 45

Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser Ile Ala Tyr Leu Gln Met Asn
50 55 60

Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Arg Asn Xaa
65 70 75 80

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Ser Thr Lys Gly
85 90 95

Pro Ser Val Leu Pro
100

<210> 36
<211> 108
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (1)..(108)
<223> región variable de cadena pesada Vh4

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (1)..(33)
<223> marco 1

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (34)..(34)
<223> región determinante de complementariedad 1 (CDR1), X es 3-20 (7) de cualquier aminoácido.

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (35)..(48)
<223> marco 2

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (49)..(49)
<223> región determinante de complementariedad 2 (CDR2), X es 10-30 (16) de cualquier aminoácido.

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (50)..(81)
<223> marco 3

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (82)..(82)
<223> región determinante de complementariedad 3 (CDR3), X es 20-45 (32) de cualquier aminoácido.

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (83)..(108)

<223> marco 4

<400> 36

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ser Ile Ser Ser
20 25 30

Ser Xaa Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly
35 40 45

Xaa Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
50 55 60

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
65 70 75 80

Arg Xaa Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Pro Thr
85 90 95

Lys Ala Pro Asp Val Phe Pro Ile Ile Ser Gly Cys
100 105

<210> 37
<211> 132
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (1)..(132)
<223> región variable de cadena pesada Vh5

<220>

<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (1)..(31)
<223> CARACTERÍSTICA DIVERSA

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (32)..(32)
<223> región deteriminante de complementariedad 1 (CDR1), X es 3-20 (5) de cualquier aminoácido.

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (33)..(46)
<223> marco 2

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (47)..(47)
<223> región deteriminante de complementariedad 2 (CDR2), X es 10-30 (17) de cualquier aminoácido.

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (48)..(79)
<223> marco 3

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (80)..(80)
<223> región deteriminante de complementariedad 3 (CDR3), X es 15-40 (23) de cualquier aminoácido.

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (81)..(132)
<223> marco 4

<400> 37

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

Glu Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Xaa
20 25 30

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

Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Trp
50 55 60

Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala Arg Xaa
65 70 75 80

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Ala
85 90 95

Pro Ser Val Phe Pro Leu Val Ser Cys Glu Asn Ser Pro Ser Asp Thr
100 105 110

Ser Ser Val Ala Val Gly Cys Leu Ala Gln Asp Phe Leu Pro Asp Ser
115 120 125

Ile Thr Phe Ser
130

<210> 38
<211> 125
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>

<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (1)..(125)
<223> región variable de cadena pesada Vh6

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (1)..(30)
<223> marco 1

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (31)..(31)
<223> región deteriminante de complementariedad 1 (CDR1), X es 3-20 (7) de cualquier aminoácido.

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (32)..(45)
<223> marco 2

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (46)..(46)
<223> región deteriminante de complementariedad 2 (CDR2), X es 10-30 (16) de cualquier aminoácido.

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (47)..(78)
<223> marco 3

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (79)..(79)
<223> región deteriminante de complementariedad 3 (CDR3), X es 5-30 (13) de cualquier aminoácido.

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (80)..(125)
<223> marco 4

<400> 38

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Ile Ser Gly Asp Ser Val Ser Xaa Trp
20 25 30

Ile Arg Gln Ser Pro Ser Arg Gly Leu Glu Trp Leu Gly Xaa Arg Ile
35 40 45

Thr Ile Asn Pro Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Gln Leu Asn
50 55 60

Ser Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Xaa Trp
65 70 75 80

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Ser Ala Ser Ala Pro
85 90 95

Thr Leu Phe Pro Leu Val Ser Cys Glu Asn Ser Pro Ser Asp Thr Ser
100 105 110

Ser Val Ala Val Gly Cys Leu Ala Gln Asp Phe Leu Pro
115 120 125

<210> 39
<211> 91
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (1)..(91)
<223> región variable de cadena pesada Vh7

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (1)..(30)
<223> marco 1

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (31)..(31)
<223> región determinante de complementariedad 1 (CDR1), X es 3-20 (5) de cualquier aminoácido.

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (32)..(45)
<223> marco 2

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (46)..(46)
<223> región determinante de complementariedad 2 (CDR2), X es 10-30 (17) de cualquier aminoácido.

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (47)..(78)
<223> marco 3

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (79)..(79)

<223> región determinante de complementariedad 3 (CDR3), X es 5-30 (13) de cualquier aminoácido.

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (80)..(91)
<223> marco 4

<400> 39

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Xaa Trp
20 25 30

Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Xaa Arg Phe
35 40 45

Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser Val Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Ile Ser
50 55 60

Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Xaa Trp
65 70 75 80

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ser
85 90

<210> 40
<211> 93
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (1)..(93)

<223> región variable de cadena ligera Kappa 1_4

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (1)..(24)
<223> marco 1

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (25)..(25)
<223> región deteriminante de complementariedad 1 (CDR1), X es 10-30 (17) de cualquier aminoácido.

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (26)..(40)
<223> marco 2

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (41)..(41)
<223> región deteriminante de complementariedad 2 (CDR2), X es 3-20 (7) de cualquier aminoácido.

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (42)..(73)
<223> marco 3

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (74)..(74)
<223> región deteriminante de complementariedad 3 (CDR3), X es 20-40 (30) de cualquier aminoácido.

<220>

<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (75)..(93)
<223> marco 4

<400> 40

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

Asp Arg Arg Val Thr Ile Thr Cys Xaa Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly
20 25 30

Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Xaa Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser
35 40 45

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln
50 55 60

Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Xaa Phe Gly Gln Gly Thr Lys
65 70 75 80

Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe
85 90

<210> 41
<211> 92
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (1)..(92)
<223> región variable de cadena ligera Kappa2

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA

<222> (1)..(23)
<223> marco 1

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (24)..(24)
<223> región determinante de complementariedad 1 (CDR1), X es 10-30 (17) de cualquier aminoácido.

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (25)..(39)
<223> marco 2

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (40)..(40)
<223> región determinante de complementariedad 2 (CDR2), X es 3-20 (7) de cualquier aminoácido.

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (41)..(72)
<223> marco 3

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (73)..(73)
<223> región determinante de complementariedad 3 (CDR3), X es 20-40 (29) de cualquier aminoácido.

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (74)..(92)
<223> marco 4

<400> 41

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Xaa Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln
20 25 30

Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Xaa Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly
35 40 45

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala
50 55 60

Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Xaa Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val
65 70 75 80

Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe
85 90

<210> 42
<211> 91
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (1)..(91)
<223> región variable de cadena ligera Kappa3

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (1)..(23)
<223> marco 1

<220>

<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (24)..(24)
<223> región deteriminante de complementariedad 1 (CDR1), X es 5-30 (13) de cualquier aminoácido.

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (25)..(39)
<223> marco 2

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (40)..(40)
<223> región deteriminante de complementariedad 2 (CDR2), X es 3-20 (7) de cualquier aminoácido.

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (41)..(72)
<223> marco 3

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (73)..(73)
<223> región deteriminante de complementariedad 3 (CDR3), X es 20-40 (30) de cualquier aminoácido.

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (74)..(91)
<223> marco 4

<400> 42

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Xaa Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
20 25 30

Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Xaa Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly
35 40 45

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro
50 55 60

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Xaa Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val
65 70 75 80

Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val
85 90

<210> 43
<211> 85
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (1)..(85)
<223> región variable de cadena ligera Kappa5

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (1)..(23)
<223> marco 1

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (24)..(24)
<223> región determinante de complementariedad 1 (CDR1), X es 5-20 (11) de cualquier aminoácido.

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (25)..(39)
<223> marco 2

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (40)..(40)
<223> región deteriminante de complementariedad 2 (CDR2), X es 3-20 (7) de cualquier aminoácido.

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (41)..(72)
<223> marco 3

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (73)..(73)
<223> región deteriminante de complementariedad 3 (CDR3), X es 10-30 (19) de cualquier aminoácido.

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (74)..(85)
<223> marco 4

<400> 43

Glu Thr Thr Leu Thr Gln Ser Pro Ala Phe Met Ser Ala Thr Pro Gly
1 5 10 15

Asp Lys Val Asn Ile Ser Cys Xaa Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Glu
20 25 30

Ala Ala Ile Phe Ile Ile Gln Xaa Gly Ile Pro Pro Arg Phe Ser Gly
35 40 45

Ser Gly Tyr Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Asn Ile Glu Ser
50 55 60

Glu Asp Ala Ala Tyr Tyr Phe Cys Xaa Leu Arg His Phe Trp Pro Gly
65 70 75 80

Asp Gln Ala Ala Gly
85

<210> 44
<211> 79
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (1)..(67)
<223> región variable de cadena ligera KappaNueva1

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (1)..(17)
<223> marco 1

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (18)..(18)
<223> región deteriminante de complementariedad 1 (CDR1), X es 10-30 (17) de cualquier aminoácido.

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (19)..(33)

<223> marco 2

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (34)..(34)
<223> región deteriminante de complementariedad 2 (CDR2), X es 3-20 (7) de cualquier aminoácido.

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (35)..(66)
<223> marco 3

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (67)..(67)
<223> región deteriminante de complementariedad 3 (CDR3), X es 10-30 (21) de cualquier aminoácido.

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (68)..(79)
<223> marco 4

<400> 44

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

Glu Xaa Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Phe Ile
20 25 30

Tyr Xaa Gly Ile Ser Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp
35 40 45

Phe Thr Leu Thr Ile Thr Ser Leu Gln Ser Glu Asp Phe Ala Val Tyr

50 55 60

Tyr Cys Xaa Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Asp Ile Lys Arg Thr
65 70 75

<210> 45
<211> 77
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (1)..(65)
<223> región variable de cadena ligera KappaNew2

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (1)..(15)
<223> marco 1

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (16)..(16)
<223> región determinante de complementariedad 1 (CDR1), X es 10-30 (18) de cualquier aminoácido.

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (17)..(31)
<223> marco 2

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (32)..(32)
<223> región determinante de complementariedad 2 (CDR2), X es 3-20 (7) de cualquier aminoácido.

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (33)..(64)
<223> marco 3

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (65)..(65)
<223> región determinante de complementariedad 3 (CDR3), X es 10-30 (21) de cualquier aminoácido.

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (66)..(77)
<223> marco 4

<400> 45

Glu Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu Xaa
1 5 10 15

Trp Tyr Gln His Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Val Ile His Xaa
20 25 30

Gly Ile Ser Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
35 40 45

Leu Thr Ile Thr Arg Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Leu Tyr Tyr Cys
50 55 60

Xaa Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Asp Phe Lys Arg Thr
65 70 75

<210> 46
<211> 95

<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (1)..(95)
<223> región variable de cadena ligera KappaNew3

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (1)..(24)
<223> marco 1

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (25)..(25)
<223> región deteriminante de complementariedad 1 (CDR1), X es 10-30 (17) de cualquier aminoácido.

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (26)..(40)
<223> marco 2

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (41)..(41)
<223> región deteriminante de complementariedad 2 (CDR2), X es 3-20 (7) de cualquier aminoácido.

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (42)..(73)
<223> marco 3

<220>

<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (74)..(74)
<223> región determinante de complementariedad 3 (CDR3), X es 3-30 (9) de cualquier aminoácido.

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (75)..(95)
<223> marco 4

<400> 46

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

Gly Arg Arg Ala Thr Ile Asn Cys Xaa Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly
20 25 30

Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Xaa Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
35 40 45

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln
50 55 60

Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Xaa Phe Gly Gly Gly Thr Lys
65 70 75 80

Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Lys Phe
85 90 95

<210> 47
<211> 98
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>

<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (1)..(98)
<223> región variable de cadena ligera Lambda1a

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (1)..(22)
<223> marco 1

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (23)..(23)
<223> región deteriminante de complementariedad 1 (CDR1). X es 5-25 (14) de cualquier aminoácido.

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (24)..(38)
<223> marco 2

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (39)..(39)
<223> región deteriminante de complementariedad 2 (CDR2). X es 3-20 (7) de cualquier aminoácido.

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (40)..(71)
<223> marco 3

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (72)..(72)
<223> región deteriminante de complementariedad 3 (CDR3). X es 30-50 (39) de cualquier aminoácido.

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (73)..(98)
<223> marco 4

<400> 47

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

Arg Val Thr Ile Ser Cys Xaa Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala
20 25 30

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Xaa Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
35 40 45

Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Gln Ser Glu
50 55 60

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Xaa Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr
65 70 75 80

Val Leu Gly Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro
85 90 95

Ser Ser

<210> 48
<211> 99
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA

<222> (1)..(99)
<223> región variable de cadena ligera Lambda1b

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (1)..(23)
<223> marco 1

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (24)..(24)
<223> región determinante de complementariedad 1 (CDR1), X es 3-25 (13) de cualquier aminoácido.

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (25)..(39)
<223> marco 2

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (40)..(40)
<223> región determinante de complementariedad 2 (CDR2), X es 3-20 (7) de cualquier aminoácido.

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (41)..(72)
<223> marco 3

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (73)..(73)
<223> región determinante de complementariedad 3 (CDR3), X es 30-50 (41) de cualquier aminoácido.

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (74)..(99)
<223> marco 4

<400> 48

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

Gln Lys Val Thr Ile Ser Cys Xaa Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr
20 25 30

Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Xaa Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly
35 40 45

Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Thr Leu Gly Ile Thr Gly Leu Gln Thr
50 55 60

Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Xaa Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu
65 70 75 80

Thr Val Leu Gly Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro
85 90 95

Pro Ser Ser

<210> 49
<211> 99
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (1)..(72)

<223> región variable de cadena ligera Lambda2

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (1)..(22)
<223> marco 1

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (23)..(23)
<223> región deteriminante de complementariedad 1 (CDR1), X es 8-25 (14) de cualquier aminoácido.

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (24)..(38)
<223> marco 2

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (39)..(39)
<223> región deteriminante de complementariedad 2 (CDR2), X es 3-20 (7) de cualquier aminoácido.

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (40)..(71)
<223> marco 3

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (72)..(72)
<223> región deteriminante de complementariedad 3 (CDR3), X es 25-50 (38) de cualquier aminoácido.

<220>

<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (73)..(99)
<223> marco 4

<400> 49

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

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Xaa Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala
20 25 30

Pro Lys Leu Met Ile Tyr Xaa Gly Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Ser
35 40 45

Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu Gln Ala Glu
50 55 60

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Xaa Phe Gly Gly Gly Thr Thr Lys Leu
65 70 75 80

Thr Val Leu Gly Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro
85 90 95

Pro Ser Ser

<210> 50
<211> 107
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (1)..(107)
<223> región variable de cadena ligera Lambda3a

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (1)..(22)
<223> marco 1

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (23)..(23)
<223> región determinante de complementariedad 1 (CDR1), X es 5-20 (11) de cualquier aminoácido.

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (24)..(38)
<223> marco 2vv

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (39)..(39)
<223> región determinante de complementariedad 2 (CDR2), X es 3-20 (7) de cualquier aminoácido.

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (40)..(71)
<223> marco 3

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (72)..(72)
<223> región determinante de complementariedad 3 (CDR3), X es 15-40 (26) de cualquier aminoácido.

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA

<222> (73)..(107)
<223> marco 4

<400> 50

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

Thr Ala Arg Ile Thr Cys Xaa Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
20 25 30

Pro Val Leu Val Ile Tyr Xaa Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
35 40 45

Ser Ser Gly Thr Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Val Gln Ala Glu
50 55 60

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Xaa Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr
65 70 75 80

Val Leu Gly Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro
85 90 95

Ser Ser Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr
100 105

<210> 51
<211> 93
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (1)..(93)
<223> región variable de cadena ligera Lambda3b

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (1)..(22)
<223> marco 1

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (23)..(23)
<223> región deteriminante de complementariedad 1 (CDR1), X es 5-20 (11) de cualquier aminoácido.

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (24)..(39)
<223> marco 2

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (40)..(40)
<223> región deteriminante de complementariedad 2 (CDR2), X es 3-20 (7) de cualquier aminoácido.

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (41)..(72)
<223> marco 3

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (73)..(73)
<223> región deteriminante de complementariedad 3 (CDR3), X es 15-40 (27) de cualquier aminoácido.

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (74)..(93)

<223> marco 4

<400> 51

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

Thr Ala Arg Ile Thr Cys Xaa Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
20 25 30

Pro Val Leu Val Val Tyr Asp Xaa Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly
35 40 45

Ser Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala
50 55 60

Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Xaa Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu
65 70 75 80

Thr Val Leu Gly Gln Pro Lys Ala Ala Pro Thr Val Thr
85 90

<210> 52
<211> 98
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (1)..(98)
<223> región variable de cadena ligera Lambda3c

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (1)..(22)
<223> marco 1

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (23)..(23)
<223> región determinante de complementariedad 1 (CDR1), X es 5-20 (11) de cualquier aminoácido.

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (24)..(38)
<223> marco 2

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (39)..(39)
<223> región determinante de complementariedad 2 (CDR2), X es 3-20 (7) de cualquier aminoácido.

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (40)..(71)
<223> marco 3

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (72)..(72)
<223> región determinante de complementariedad 3 (CDR3), X es 25-50 (37) de cualquier aminoácido.

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (73)..(98)
<223> marco 4

<400> 52

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

Thr Ala Ser Ile Thr Cys Xaa Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser
20 25 30

Pro Val Leu Val Ile Tyr Xaa Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
35 40 45

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Met
50 55 60

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Xaa Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr
65 70 75 80

Val Leu Gly Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Arg Ser Leu Cys Pro Pro
85 90 95

Pro Pro

<210> 53
<211> 98
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (1)..(98)
<223> región variable de cadena ligera Lambda3e

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (1)..(22)
<223> marco 1

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (23)..(23)
<223> región deteriminante de complementariedad 1 (CDR1), X es 5-20 (11) de cualquier aminoácido.

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (24)..(38)
<223> marco 2

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (39)..(39)
<223> región deteriminante de complementariedad 2 (CDR2), X es 3-20 (7) de cualquier aminoácido.

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (40)..(71)
<223> marco 3

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (72)..(72)
<223> región deteriminante de complementariedad 3 (CDR3), X es 15-40 (26) de cualquier aminoácido.

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (73)..(98)
<223> marco 4

<400> 53

Ser Ser Glu Leu Thr Gln Asp Pro Ala Val Ser Val Ala Leu Gly Gln

1 5 10 15

Thr Val Arg Ile Thr Cys Xaa Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
20 25 30

Pro Val Leu Val Ile Tyr Xaa Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
35 40 45

Ser Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu
50 55 60

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Xaa Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr
65 70 75 80

Val Leu Gly Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro
85 90 95

Ser Ser

<210> 54
<211> 94
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (1)..(94)
<223> región variable de cadena ligera Lambda4a

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (1)..(22)
<223> marco 1

<220>

<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (23)..(23)
<223> región deteriminante de complementariedad 1 (CDR1), X es 5-25 (12) de cualquier aminoácido.

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (24)..(38)
<223> marco 2

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (39)..(39)
<223> región deteriminante de complementariedad 2 (CDR2), X es 5-25 (11) de cualquier aminoácido.

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (40)..(71)
<223> marco 3

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (72)..(72)
<223> región deteriminante de complementariedad 3 (CDR3), X es 10-40 (23) de cualquier aminoácido.

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (73)..(94)
<223> marco 4

<400> 54

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

Ser Val Lys Leu Thr Cys Xaa Trp His Gln Gln Gln Pro Gly Lys Ala
20 25 30

Pro Arg Tyr Leu Met Lys Xaa Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
35 40 45

Ser Ser Gly Ala Asp Arg Tyr Leu Thr Ile Ser Asn Leu Gln Ser Glu
50 55 60

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Xaa Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr
65 70 75 80

Val Leu Gly Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe
85 90

<210> 55
<211> 95
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (1)..(95)
<223> región variable de cadena ligera Lambde4b

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (1)..(22)
<223> marco 1

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (23)..(23)
<223> región deteriminante de complementariedad 1 (CDR1), X es 5-25 (12) de cualquier aminoácido.

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (24)..(38)
<223> marco 2

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (39)..(39)
<223> región determinante de complementariedad 2 (CDR2), X es 5-25 (11) de cualquier aminoácido.

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (40)..(71)
<223> marco 3

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (72)..(72)
<223> región determinante de complementariedad 3 (CDR3), X es 15-40 (25) de cualquier aminoácido.

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (73)..(95)
<223> marco 4

<400> 55

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

Ser Val Lys Leu Thr Cys Xaa Trp His Gln Gln Gln Pro Glu Lys Gly
20 25 30

Pro Arg Tyr Leu Met Lys Xaa Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
35 40 45

Ser Ser Gly Ala Glu Arg Tyr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser Glu
50 55 60

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Xaa Phe Gly Gly Ile Gly Gly Gly Thr
65 70 75 80

Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Ser
85 90 95

<210> 56
<211> 88
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (1)..(75)
<223> región variable de cadena ligera Lambda5

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (1)..(22)
<223> marco 1

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (23)..(23)
<223> región deteriminante de complementariedad 1 (CDR1), X es 5-25 (14) de cualquier aminoácido.

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (24)..(39)

<223> marco 2

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (40)..(40)
<223> región deteriminante de complementariedad 2 (CDR2), X es 5-20 (10) de cualquier aminoácido.

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (41)..(74)
<223> marco 3

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (75)..(75)
<223> región deteriminante de complementariedad 3 (CDR3), X es 10-35 (22) de cualquier aminoácido.

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (76)..(88)
<223> marco 4

<400> 56

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

Ser Ala Ser Leu Thr Cys Xaa Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Ser Pro
20 25 30

Pro Gln Tyr Leu Leu Arg Tyr Xaa Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
35 40 45

Ser Lys Asp Ala Ser Ala Asn Ala Gly Ile Leu Leu Ile Ser Gly Leu

50 55 60

Gln Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Xaa Phe Gly Gly Gly Thr
65 70 75 80

Lys Leu Thr Val Leu Ser Gln Pro
85

<210> 57
<211> 101
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (1)..(101)
<223> región variable de cadena ligera Lambda6

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (1)..(22)
<223> marco 1

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (23)..(23)
<223> región deteriminante de complementariedad 1 (CDR1), X es 5-25 (13) de cualquier aminoácido.

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (24)..(38)
<223> marco 2

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA

<222> (39)..(39)
<223> región determinante de complementariedad 2 (CDR2), X es 3-20 (7) de cualquier aminoácido.

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (40)..(73)
<223> marco 3

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (74)..(74)
<223> región determinante de complementariedad 3 (CDR3), X es 25-50 (38) de cualquier aminoácido.

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (75)..(101)
<223> marco 4

<400> 57

Asn Phe Met Leu Thr Gln Pro His Ser Val Ser Glu Ser Pro Gly Lys
1 5 10 15

Thr Val Thr Ile Ser Cys Xaa Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Ser Ala
20 25 30

Pro Thr Thr Val Ile Tyr Xaa Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
35 40 45

Ile Asp Ser Ser Ser Asn Ser Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu Lys
50 55 60

Thr Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Xaa Phe Gly Gly Gly Thr Lys
65 70 75 80

Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe
85 90 95

Pro Pro Ser Ser Ser
100

<210> 58
<211> 89
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (1)..(72)
<223> región variable de cadena ligera Lambda7

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (1)..(22)
<223> marco 1

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (23)..(23)
<223> región deteriminante de complementariedad 1 (CDR1), X es 5-25 (14) de cualquier aminoácido.

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (24)..(38)
<223> marco 2

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (39)..(39)

<223> región determinante de complementariedad 2 (CDR2), X es 3-20 (7) de cualquier aminoácido.

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (40)..(71)
<223> marco 3

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (72)..(72)
<223> región determinante de complementariedad 3 (CDR3), X es 10-35 (23) de cualquier aminoácido.

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (73)..(89)
<223> marco 4

<400> 58

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

Thr Val Thr Leu Thr Cys Xaa Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
20 25 30

Pro Arg Ala Leu Ile Tyr Xaa Trp Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
35 40 45

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

Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Xaa Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr
65 70 75 80

Val Leu Gly Gln Pro Lys Ala Ala Pro
85

<210> 59
<211> 89
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (1)..(89)
<223> región variable de cadena ligera Lambda8

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (1)..(22)
<223> marco 1

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (23)..(23)
<223> región deteriminante de complementariedad 1 (CDR1), X es 5-25 (14) de cualquier aminoácido.

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (24)..(38)
<223> marco 2

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (39)..(39)
<223> región deteriminante de complementariedad 2 (CDR2), X es 3-20 (7) de cualquier aminoácido.

<220>

<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (40)..(71)
<223> marco 3

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (72)..(72)
<223> región determinante de complementariedad 3 (CDR3), X es 15-35 (25) de cualquier aminoácido.

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (73)..(89)
<223> marco 4

<400> 59

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

Thr Val Thr Leu Thr Cys Xaa Trp Tyr Gln Gln Thr Pro Gly Gln Ala
20 25 30

Pro Arg Thr Leu Ile Tyr Xaa Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
35 40 45

Ile Leu Gly Asn Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Ala Asp
50 55 60

Asp Glu Ser Asp Tyr Tyr Cys Xaa Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr
65 70 75 80

Val Leu Gly Gln Pro Lys Ala Ala Pro
85

<210> 60

<211> 91
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (1)..(91)
<223> región variable de cadena ligera Lambda9

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (1)..(22)
<223> marco 1

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (23)..(23)
<223> región deteriminante de complementariedad 1 (CDR1), X es 5-25 (12) de cualquier aminoácido.

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (24)..(38)
<223> marco 2

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (39)..(39)
<223> región deteriminante de complementariedad 2 (CDR2), X es 5-25 (12) de cualquier aminoácido.

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (40)..(79)
<223> marco 3

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (80)..(80)
<223> región determinante de complementariedad 3 (CDR3), X es 15-40 (28) de cualquier aminoácido.

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (81)..(91)
<223> marco 4

<400> 60

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

Ser Val Thr Leu Thr Cys Xaa Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Lys Gly
20 25 30

Pro Arg Phe Val Met Arg Xaa Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Val Leu
35 40 45

Gly Ser Gly Leu Asn Arg Tyr Leu Thr Ile Lys Asn Ile Gln Glu Glu
50 55 60

Asp Glu Ser Asp Tyr His Cys Xaa Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr
65 70 75 80

Val Leu Gly Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val
85 90

<210> 61
<211> 87
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (1)..(87)
<223> región variable de cadena ligera Lambda10

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (1)..(22)
<223> marco 1

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (23)..(23)
<223> región determinante de complementariedad 1 (CDR1), X es 5-25 (13) de cualquier aminoácido.

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (24)..(38)
<223> marco 2

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (39)..(39)
<223> región determinante de complementariedad 2 (CDR2), X es 3-20 (7) de cualquier aminoácido.

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (40)..(71)
<223> marco 3

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (72)..(72)
<223> región determinante de complementariedad 3 (CDR3), X es 15-40 (27) de

cualquier aminoácido.

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (73)..(87)
<223> marco 4

<400> 61

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

Thr Ala Thr Leu Thr Cys Xaa Trp Leu Gln Gln His Gln Gly His Pro
20 25 30

Pro Lys Leu Leu Ser Tyr Xaa Gly Ile Ser Glu Arg Phe Ser Ala Ser
35 40 45

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

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Xaa Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr
65 70 75 80

Val Leu Gly Gln Pro Lys Ala
85

<210> 62
<211> 354
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (1)..(354)
<223> región constante de cadena pesada IgA1

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (1)..(102)
<223> CH1

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (103)..(121)
<223> bisagra

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (122)..(222)
<223> CH2

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (223)..(354)
<223> CH3

<400> 62

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

Gln Pro Asp Gly Asn Val Val Ile Ala Cys Leu Val Gln Gly Phe Phe
20 25 30

Pro Gln Glu Pro Leu Ser Val Thr Trp Ser Glu Ser Gly Gln Gly Val
35 40 45

Thr Ala Arg Asn Phe Pro Pro Ser Gln Asp Ala Ser Gly Asp Leu Tyr
50 55 60

Thr Thr Ser Ser Gln Leu Thr Leu Pro Ala Thr Gln Cys Leu Ala Gly

65 70 75 80

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

Val Thr Val Pro Cys Pro Val Pro Ser Thr Pro Pro Thr Pro Ser Pro
100 105 110

Ser Thr Pro Pro Thr Pro Ser Pro Ser Cys Cys His Pro Arg Leu Ser
115 120 125

Leu His Arg Pro Ala Leu Glu Asp Leu Leu Leu Gly Ser Glu Ala Asn
130 135 140

Leu Thr Cys Thr Leu Thr Gly Leu Arg Asp Ala Ser Gly Val Thr Phe
145 150 155 160

Thr Trp Thr Pro Ser Ser Gly Lys Ser Ala Val Gln Gly Pro Pro Glu
165 170 175

Arg Asp Leu Cys Gly Cys Tyr Ser Val Ser Ser Val Leu Pro Gly Cys
180 185 190

Ala Glu Pro Trp Asn His Gly Lys Thr Phe Thr Cys Thr Ala Ala Tyr
195 200 205

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

Thr Phe Arg Pro Glu Val His Leu Leu Pro Pro Pro Ser Glx Glu Glu
225 230 235 240

Leu Ala Leu Asn Glu Leu Val Thr Leu Thr Cys Leu Ala Arg Gly Phe
245 250 255

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

260 265 270

Pro Arg Glu Lys Tyr Leu Thr Trp Ala Ser Arg Gln Glu Pro Ser Gln
275 280 285

Gly Thr Thr Thr Phe Ala Val Thr Ser Ile Leu Arg Val Ala Ala Glu
290 295 300

Asp Trp Lys Lys Gly Asp Thr Phe Ser Cys Met Val Gly His Glu Ala
305 310 315 320

Leu Pro Leu Ala Phe Thr Gln Lys Thr Ile Asp Arg Leu Ala Gly Lys
325 330 335

Pro Thr His Val Asn Val Ser Val Val Met Ala Glu Val Asp Gly Thr
340 345 350

Cys Tyr

<210> 63
<211> 340
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (1)..(340)
<223> región constante de cadena pesada IgA2

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (1)..(102)
<223> CH1

<220>

<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (103)..(108)
<223> bisagra

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (109)..(209)
<223> CH2

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (210)..(340)
<223> CH3

<400> 63

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

Pro Gln Asp Gly Asn Val Val Val Ala Cys Leu Val Gln Gly Phe Phe
20 25 30

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

Thr Ala Arg Asn Phe Pro Pro Ser Gln Asp Ala Ser Gly Asp Leu Tyr
50 55 60

Thr Thr Ser Ser Gln Leu Thr Leu Pro Ala Thr Gln Cys Pro Asp Gly
65 70 75 80

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

Val Thr Val Pro Cys Pro Val Pro Pro Pro Pro Pro Cys Cys His Pro
100 105 110

Arg Leu Ser Leu His Arg Pro Ala Leu Glu Asp Leu Leu Leu Gly Ser
115 120 125

Glu Ala Asn Leu Thr Cys Thr Leu Thr Gly Leu Arg Asp Ala Ser Gly
130 135 140

Ala Thr Phe Thr Trp Thr Pro Ser Ser Gly Lys Ser Ala Val Gln Gly
145 150 155 160

Pro Pro Glu Arg Asp Leu Cys Gly Cys Tyr Ser Val Ser Ser Val Leu
165 170 175

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

Ala Ala His Pro Glu Leu Lys Thr Pro Leu Thr Ala Asn Ile Thr Lys
195 200 205

Ser Gly Asn Thr Phe Arg Pro Glu Val His Leu Leu Pro Pro Pro Ser
210 215 220

Glu Glu Leu Ala Leu Asn Glu Leu Val Thr Leu Thr Cys Leu Ala Arg
225 230 235 240

Gly Phe Ser Pro Lys Asp Val Leu Val Arg Trp Leu Gln Gly Ser Gln
245 250 255

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

Ser Gln Gly Thr Thr Thr Phe Ala Val Thr Ser Ile Leu Arg Val Ala
275 280 285

Ala Glu Asp Trp Lys Lys Gly Asp Thr Phe Ser Cys Met Val Gly His
290 295 300

Glu Ala Leu Pro Leu Ala Phe Thr Gln Lys Thr Ile Asp Arg Leu Ala
305 310 315 320

Gly Lys Pro Thr His Val Asn Val Ser Val Val Met Ala Glu Val Asp
325 330 335

Gly Thr Cys Tyr
340

<210> 64
<211> 384
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (1)..(384)
<223> región constante de cadena pesada IgD

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (1)..(101)
<223> CH1

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (102)..(135)
<223> bisagra 1

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (136)..(159)
<223> bisagra 2

<220>

<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (160)..(267)
<223> CH2

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (268)..(384)
<223> CH3

<400> 64

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

His Pro Lys Asp Asn Ser Pro Val Val Leu Ala Cys Leu Ile Thr Gly
20 25 30

Tyr His Pro Thr Ser Val Thr Val Thr Trp Tyr Met Gly Thr Gln Ser
35 40 45

Gln Pro Gln Arg Thr Phe Pro Glu Ile Gln Arg Arg Asp Ser Tyr Tyr
50 55 60

Met Thr Ser Ser Gln Leu Ser Thr Pro Leu Gln Gln Trp Arg Gln Gly
65 70 75 80

Glu Tyr Lys Cys Val Val Gln His Thr Ala Ser Lys Ser Lys Lys Glu
85 90 95

Ile Phe Arg Trp Pro Glu Ser Pro Lys Ala Gln Ala Ser Ser Val Pro
100 105 110

Thr Ala Gln Pro Gln Ala Glu Gly Ser Leu Ala Lys Ala Thr Thr Ala
115 120 125

Pro Ala Thr Thr Arg Asn Thr Gly Arg Gly Gly Glu Glu Lys Lys Lys

130 135 140

Glu Lys Glu Lys Glu Glu Gln Glu Glu Arg Glu Thr Lys Thr Pro Glu
145 150 155 160

Cys Pro Ser His Thr Gln Pro Leu Gly Val Tyr Leu Leu Thr Pro Ala
165 170 175

Val Gln Asp Leu Trp Leu Arg Asp Lys Ala Thr Phe Thr Cys Phe Val
180 185 190

Val Gly Ser Asp Leu Lys Asp Ala His Leu Thr Trp Glu Val Ala Gly
195 200 205

Lys Val Pro Thr Gly Gly Val Glu Glu Gly Leu Leu Glu Arg His Ser
210 215 220

Asn Gly Ser Gln Ser Gln His Ser Arg Leu Thr Leu Pro Arg Ser Leu
225 230 235 240

Trp Asn Ala Gly Thr Ser Val Thr Cys Thr Leu Asn His Pro Ser Leu
245 250 255

Pro Pro Gln Arg Leu Met Ala Leu Arg Glu Pro Ala Ala Gln Ala Pro
260 265 270

Val Lys Leu Ser Leu Asn Leu Leu Ala Ser Ser Asp Pro Pro Glu Ala
275 280 285

Ala Ser Trp Leu Leu Cys Glu Val Ser Gly Phe Ser Pro Pro Asn Ile
290 295 300

Leu Leu Met Trp Leu Glu Asp Gln Arg Glu Val Asn Thr Ser Gly Phe
305 310 315 320

Ala Pro Ala Arg Pro Pro Pro Gln Pro Arg Ser Thr Thr Phe Trp Ala

325 330 335

Trp Ser Val Leu Arg Val Pro Ala Pro Pro Ser Pro Gln Pro Ala Thr
340 345 350

Tyr Thr Cys Val Val Ser His Glu Asp Ser Arg Thr Leu Leu Asn Ala
355 360 365

Ser Arg Ser Leu Glu Val Ser Tyr Val Thr Asp His Gly Pro Met Lys
370 375 380

<210> 65
<211> 497
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (1)..(497)
<223> región constante de cadena pesada IgE

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (1)..(103)
<223> CH1

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (104)..(210)
<223> CH2

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (211)..(318)
<223> CH3

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (319)..(497)
<223> CH4

<400> 65

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

Asn Ile Pro Ser Asn Ala Thr Ser Val Thr Leu Gly Cys Leu Ala Thr
20 25 30

Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Met Val Thr Trp Asp Thr Gly Ser Leu
35 40 45

Asn Gly Thr Thr Met Thr Leu Pro Ala Thr Thr Leu Thr Leu Ser Gly
50 55 60

His Tyr Ala Thr Ile Ser Leu Leu Thr Val Ser Gly Ala Trp Ala Lys
65 70 75 80

Gln Met Phe Thr Cys Arg Val Ala His Thr Pro Ser Ser Thr Asp Trp
85 90 95

Val Asp Asn Lys Thr Phe Ser Val Cys Ser Arg Asp Phe Thr Pro Pro
100 105 110

Thr Val Lys Ile Leu Gln Ser Ser Cys Asp Gly Gly Gly His Phe Pro
115 120 125

Pro Thr Ile Gln Leu Leu Cys Leu Val Ser Gly Tyr Thr Pro Gly Thr
130 135 140

Ile Asn Ile Thr Trp Leu Glu Asp Gly Gln Val Met Asp Val Asp Leu
145 150 155 160

Ser Thr Ala Ser Thr Thr Gln Glu Gly Glu Leu Ala Ser Thr Gln Ser
165 170 175

Glu Leu Thr Leu Ser Gln Lys His Trp Leu Ser Asp Arg Thr Tyr Thr
180 185 190

Cys Gln Val Thr Tyr Gln Gly His Thr Phe Glu Asp Ser Thr Lys Lys
195 200 205

Cys Ala Asp Ser Asn Pro Arg Gly Val Ser Ala Tyr Leu Ser Arg Pro
210 215 220

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

Val Val Asp Leu Ala Pro Ser Lys Gly Thr Val Asn Leu Thr Trp Ser
245 250 255

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

Gln Arg Asn Gly Thr Leu Thr Val Thr Ser Thr Leu Pro Val Gly Thr
275 280 285

Arg Asp Trp Ile Glu Gly Glu Thr Tyr Gln Cys Arg Val Thr His Pro
290 295 300

His Leu Pro Arg Ala Leu Met Arg Ser Thr Thr Lys Thr Ser Gly Pro
305 310 315 320

Val Gly Pro Arg Ala Ala Pro Glu Val Tyr Ala Phe Ala Thr Pro Glu
325 330 335

Trp Pro Gly Ser Arg Asp Lys Arg Thr Leu Ala Cys Leu Ile Gln Asn
340 345 350

Phe Met Pro Glu Asp Ile Ser Val Gln Trp Leu His Asn Glu Val Gln
355 360 365

Leu Pro Asp Ala Arg His Ser Thr Thr Gln Pro Arg Lys Thr Lys Gly
370 375 380

Ser Gly Phe Phe Val Phe Ser Arg Leu Glu Val Thr Arg Ala Glu Trp
385 390 395 400

Glu Gln Lys Asp Glu Phe Ile Cys Arg Ala Val His Glu Ala Ala Ser
405 410 415

Pro Ser Gln Thr Val Gln Arg Ala Val Ser Val Asn Pro Gly Lys Asp
420 425 430

Val Cys Val Glu Glu Ala Glu Gly Glu Ala Pro Trp Thr Trp Thr Gly
435 440 445

Leu Cys Ile Phe Ala Ala Leu Phe Leu Leu Ser Val Ser Tyr Ser Ala
450 455 460

Ala Leu Thr Leu Leu Met Val Gln Arg Phe Leu Ser Ala Thr Arg Gln
465 470 475 480

Gly Arg Pro Gln Thr Ser Leu Asp Tyr Thr Asn Val Leu Gln Pro His
485 490 495

Ala

<210> 66
<211> 339
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (1)..(339)
<223> región constante de cadena pesada IgG1

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (1)..(98)
<223> CH1

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (99)..(113)
<223> bisagra

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (114)..(223)
<223> CH2

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (224)..(339)
<223> CH3

<400> 66

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Thr His Thr Cys Pro
325 330 335

Pro Cys Pro

<210> 67
<211> 326
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (1)..(326)
<223> región constante de cadena pesada IgG2

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (1)..(98)
<223> CH1

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (99)..(110)
<223> bisagra

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (111)..(219)
<223> CH2

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (220)..(326)
<223> CH3

<400> 67

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

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

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

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

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

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

Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

290 295 300

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

Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 68
<211> 377
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (1)..(377)
<223> región constante de cadena pesada IgG3

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (1)..(98)
<223> CH1

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (99)..(115)
<223> bisagra 1

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (116)..(130)
<223> bisagra 2

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (131)..(145)

<223> bisagra 3

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (146)..(160)
<223> bisagra 4

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (161)..(270)
<223> CH2

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (271)..(377)
<223> CH3

<400> 68

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Ile
340 345 350

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Arg Phe Thr Gln
355 360 365

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
370 375

<210> 69
<211> 327
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (1)..(327)
<223> región constante de cadena pesada IgG4

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (1)..(98)
<223> CH1

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA

<222> (99)..(110)
<223> bisagra

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (111)..(220)
<223> CH2

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (221)..(327)
<223> CH3

<400> 69

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
325

<210> 70
<211> 476
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (1)..(476)
<223> Región IgM constante de cadena pesada

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (1)..(104)
<223> CH1

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (105)..(217)
<223> CH2

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (218)..(323)
<223> CH3

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (324)..(476)
<223> CH4

<400> 70

Gly Ser Ala Ser Ala Pro Thr Leu Phe Pro Leu Val Ser Cys Glu Asn
1 5 10 15

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

Phe Leu Pro Asp Ser Ile Thr Phe Ser Trp Lys Tyr Lys Asn Asn Ser
35 40 45

Asp Ile Ser Ser Thr Arg Gly Phe Pro Ser Val Leu Arg Gly Gly Lys
50 55 60

Tyr Ala Ala Thr Ser Gln Val Leu Leu Pro Ser Lys Asp Val Met Gln
65 70 75 80

Gly Thr Asp Glu His Val Val Cys Lys Val Gln His Pro Asn Gly Asn
85 90 95

Lys Glu Lys Asn Val Pro Leu Pro Val Ile Ala Glu Leu Pro Pro Lys
100 105 110

Val Ser Val Phe Val Pro Pro Arg Asp Gly Phe Phe Gly Asn Pro Arg
115 120 125

Ser Lys Ser Lys Leu Ile Cys Gln Ala Thr Gly Phe Ser Pro Arg Gln
130 135 140

Ile Gln Val Ser Trp Leu Arg Glu Gly Lys Gln Val Gly Ser Gly Val
145 150 155 160

Thr Thr Asp Gln Val Gln Ala Glu Ala Lys Glu Ser Gly Pro Thr Thr
165 170 175

Tyr Lys Val Thr Ser Thr Leu Thr Ile Lys Glu Ser Asp Trp Leu Ser

180 185 190

Gln Ser Met Phe Thr Cys Arg Val Asp His Arg Gly Leu Thr Phe Gln
195 200 205

Gln Asn Ala Ser Ser Met Cys Val Pro Asp Gln Asp Thr Ala Ile Arg
210 215 220

Val Phe Ala Ile Pro Pro Ser Phe Ala Ser Ile Phe Leu Thr Lys Ser
225 230 235 240

Thr Lys Leu Thr Cys Leu Val Thr Asp Leu Thr Thr Tyr Asp Ser Val
245 250 255

Thr Ile Ser Trp Thr Arg Gln Asn Gly Glu Ala Val Lys Thr His Thr
260 265 270

Asn Ile Ser Glu Ser His Pro Asn Ala Thr Phe Ser Ala Val Gly Glu
275 280 285

Ala Ser Ile Cys Glu Asp Asp Trp Asn Ser Gly Glu Arg Phe Thr Cys
290 295 300

Thr Val Thr His Thr Asp Leu Pro Ser Pro Leu Lys Gln Thr Ile Ser
305 310 315 320

Arg Pro Lys Gly Val Ala Leu His Arg Pro Asp Val Tyr Leu Leu Pro
325 330 335

Pro Ala Arg Glu Gln Leu Asn Leu Arg Glu Ser Ala Thr Ile Thr Cys
340 345 350

Leu Val Thr Gly Phe Ser Pro Ala Asp Val Phe Val Gln Trp Gln Met
355 360 365

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

370 375 380

Met Pro Glu Pro Gln Ala Pro Gly Arg Tyr Phe Ala His Ser Ile Leu
385 390 395 400

Thr Val Ser Glu Glu Glu Trp Asn Thr Gly Glu Thr Tyr Thr Cys Val
405 410 415

Val Ala His Glu Ala Leu Pro Asn Arg Val Thr Glu Arg Thr Val Asp
420 425 430

Lys Ser Thr Gly Lys Pro Thr Ser Ala Asp Glu Glu Gly Phe Glu Asn
435 440 445

Leu Trp Ala Thr Ala Ser Thr Phe Ile Val Leu Tyr Asn Val Ser Leu
450 455 460

Val Met Ser Asp Thr Ala Gly Thr Cys Tyr Val Lys
465 470 475

<210> 71
<211> 107
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (1)..(107)
<223> Región constante kappa de cadena ligera (IgKc)

<400> 71

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
1 5 10 15

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe

20 25 30

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
35 40 45

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
50 55 60

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
65 70 75 80

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
85 90 95

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 72
<211> 107
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA
<222> (1)..(107)
<223> Región constante lambda de cadena ligera (IgLambda)

<400> 72

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

Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp
20 25 30

Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro

35 40 45

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

Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys
65 70 75 80

Ser His Arg Lys Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr
85 90 95

Val Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
100 105

<210> 73
<211> 4
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> péptido sintético

<400> 73

Gly Gly Gly Ser
1

<210> 74
<211> 6
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> péptido sintético

<400> 74

Gly Ser Gly Gly Gly Ser
1 5

<210> 75
<211> 5
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> péptido sintético

<400> 75

Cys Pro Pro Cys Pro
1 5

<210> 76
<211> 110
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> péptido sintético

<400> 76

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

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
20 25 30

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

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
50 55 60

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
65 70 75 80

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
85 90 95

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
100 105 110

<210> 77
<211> 110
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> péptido sintético

<400> 77

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

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
20 25 30

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

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
50 55 60

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
65 70 75 80

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
85 90 95

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
100 105 110

<210> 78
<211> 107
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> péptido sintético

<400> 78

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

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

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

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

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

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

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

100 105

<210> 79
<211> 110
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> péptido sintético

<400> 79

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

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
20 25 30

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

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
50 55 60

Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
65 70 75 80

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
85 90 95

Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
100 105 110

<210> 80
<211> 110
<212> PRT

<213> Artificial

<220>
<223> péptido sintético

<400> 80

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

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
20 25 30

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

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
50 55 60

Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
65 70 75 80

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
85 90 95

Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
100 105 110

<210> 81
<211> 107
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> péptido sintético

<400> 81

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

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

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

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

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

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

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

<210> 82
<211> 247
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> péptido sintético

<400> 82

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

Val Cys Lys Pro Gln Gly Gly Gly Ser Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
20 25 30

Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
35 40 45

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
50 55 60

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
65 70 75 80

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
85 90 95

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
100 105 110

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
115 120 125

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
130 135 140

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

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
165 170 175

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
180 185 190

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
195 200 205

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
210 215 220

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
225 230 235 240

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
245

<210> 83
<211> 249
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> péptido sintético

<400> 83

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

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

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
35 40 45

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
50 55 60

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
65 70 75 80

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
85 90 95

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
100 105 110

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
115 120 125

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
130 135 140

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
145 150 155 160

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
165 170 175

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
180 185 190

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
195 200 205

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
210 215 220

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
225 230 235 240

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
245

<210> 84
<211> 251
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> péptido sintético

<400> 84

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

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

Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
35 40 45

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
50 55 60

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
65 70 75 80

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
85 90 95

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
100 105 110

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
115 120 125

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
130 135 140

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp
145 150 155 160

Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe

165 170 175

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
180 185 190

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
195 200 205

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
210 215 220

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
225 230 235 240

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
245 250

<210> 85
<211> 247
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> péptido sintético

<400> 85

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

Val Cys Lys Pro Gln Gly Gly Gly Ser Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
20 25 30

Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
35 40 45

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
50 55 60

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
65 70 75 80

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
85 90 95

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
100 105 110

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
115 120 125

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
130 135 140

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

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
165 170 175

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
180 185 190

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
195 200 205

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
210 215 220

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
225 230 235 240

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
245

<210> 86
<211> 249
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> péptido sintético

<400> 86

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

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

Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
35 40 45

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
50 55 60

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
65 70 75 80

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
85 90 95

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
100 105 110

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
115 120 125

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
130 135 140

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
145 150 155 160

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
165 170 175

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
180 185 190

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
195 200 205

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
210 215 220

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
225 230 235 240

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
245

<210> 87
<211> 247
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> péptido sintético

<400> 87

Gln Ile Gln Gly Gly Thr Tyr Ser Cys His Phe Gly Pro Leu Thr Trp

1 5 10 15

Val Cys Lys Pro Gln Gly Gly Gly Ser Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
20 25 30

Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
35 40 45

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
50 55 60

Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
65 70 75 80

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
85 90 95

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
100 105 110

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
115 120 125

Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
130 135 140

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys
145 150 155 160

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
165 170 175

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
180 185 190

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser

195 200 205

Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
210 215 220

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
225 230 235 240

Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
245

<210> 88
<211> 247
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> péptido sintético

<400> 88

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

Val Cys Lys Pro Gln Gly Gly Gly Ser Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
20 25 30

Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
35 40 45

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
50 55 60

Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
65 70 75 80

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
85 90 95

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
100 105 110

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
115 120 125

Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
130 135 140

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys
145 150 155 160

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
165 170 175

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
180 185 190

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
195 200 205

Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
210 215 220

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
225 230 235 240

Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
245

<210> 89
<211> 249
<212> PRT

<213> Artificial

<220>
<223> péptido sintético

<400> 89

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

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

Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
35 40 45

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
50 55 60

Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr
65 70 75 80

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
85 90 95

Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
100 105 110

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
115 120 125

Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
130 135 140

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met
145 150 155 160

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
165 170 175

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
180 185 190

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
195 200 205

Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val
210 215 220

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
225 230 235 240

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
245

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

(43) International Publication Date
14 April 2005 (14.04.2005)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2005/032460 A2

(51) International Patent Classification[7]: A61K

(21) International Application Number: PCT/US2004/028976

(22) International Filing Date: 03 September 2004 (03.09.2004)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language:

(30) Priority Data
60/507,349 30 September 2003 (30.09.2003) US

(71) Applicant *(for all designated States except US)*: **CENTOCOR, INC.** [US/US]; 200 Great Valley Parkway, Malvern, Pennsylvania 19355 (US).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants *(for US only)*: **HEAVNER, George** [US/US]; 6 Oak Glen Drive, Malvern, Pennsylvania 19355 (US). **KNIGHT, David, M.** [US/US]; 2430 Whitehorse Road, Berwyn, Pennsylvania 19312 (US). **SCALLON, Bernard** [US/US]; 139 Hemlock Drive, Collegeville, Pennsylvania 19426 (US). **GHRAYEB, John** [US/US]; 6 Summerhill Drive, Downingtown, Pennsylvania 29335 (US). **NESSPOR, Thomas, C.** [US/US]; 22 King Way, Limerick, Pennsylvania 19468 (US). **HUANG, Chichi** [US/US]; 69 Highpoint Drive, Berwyn, Pennsylvania 19312 (US).

(74) Agents: **JOHNSON, Philip, S., et al**; One Johnson & Johnson Plaza, New Brunswick, NJ 08933 (US).

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

(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available): ARIPO patent (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG, BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG)

For information on time limits for entry into the national phase please click here

Published

— *without international search report and to be republished upon receipt of that report*

(54) Title: HUMAN EPO MIMETIC HINGE CORE MIMETIBODIES, COMPOSITIONS, METHODS AND USES

(57) Abstract

The present invention relates to at least one novel human EPO mimetic hinge core mimetibody or

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

Applicant's or agent's file reference CEN5039PCT	FOR FURTHER ACTION	see Form PCT/ISA/220 as well as, where applicable, item 5 below.
International application No. PCT/US04/28976	International filing date (*day/month/year*) 03 September 2004 (03.09.2004)	(Earliest) Priority Date (*day/month/year*) 03 September 2003 (03.09.2003)
Applicant CENTOCOR, INC.		

This international search report has been prepared by this International Searching Authority and is transmitted to the applicant according to Article 18. A copy is being transmitted to the International Bureau.

This international search report consists of a total of 5 sheets.

☒ It is also accompanied by a copy of each prior art document cited in this report.

1. Basis of the Report
   a. With regard to the language, the international search was carried out on the basis of:
      ☒ the international application in the language in which it was filed.
      ☐ a translation of the international application into _____, which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1(b))
   b. ☒ With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, see Box No. I.
2. ☒ Certain claims were found unsearchable (See Box No. II)
3. ☐ Unity of invention is lacking (See Box No. III)
4. With regard to the title,
   ☒ the text is approved as submitted by the applicant.
   ☐ the text has been established by this Authority to read as follows:

5. With regard to the abstract,
   ☒ the text is approved as submitted by the applicant.
   ☐ the text has been established, according to Rule 38.2(b), by this Authority as it appears in Box No. IV. The applicant may, within one month from the date of mailing of this international search report, submit comments to this Authority.
6. With regard to the drawings,
   a. the figure of the drawings to be published with the abstract is Figure No. _____
      ☐ as suggested by the applicant.
      ☐ as selected by this Authority, because the applicant failed to suggest a figure.
      ☐ as selected by this Authority, because this figure better characterizes the invention.
   b. ☐ none of the figures is to be published with the abstract.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US04/28976

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.b of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application and necessary to the claimed invention, the international search was carried out on the basis of:

a. type of material

- ☒ a sequence listing
- ☒ table(s) related to the sequence listing

b. format of material

- ☒ on paper
- ☒ in electronic form

c. time of filing/furnishing

- ☒ contained in the international application as filed
- ☒ filed together with the international application in electronic form
- ☐ furnished subsequently to this Authority for the purposes of search

2. ☒ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing and/or table relating thereto has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

3. Additional comments: A Raw Sequence Listing Error Report was entered (14 September 2000). The Computer Readable Form (CRF) is flawed and was not entered into the database.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US04/28976

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☒ Claims Nos.: 1-3,5-17,19 and 20
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
The Computer Readable Form (CRF) is flawed technically and was not entered into the database.

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of any additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest
☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US04/28976

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC(8) : C07K 14/00, 16/46; A61K 38/00, 37/00, 39/00; C12N 5/00, 15/00
US Cl. : 530/350, 387.1, 397, 399; 514/2, 44; 424/130.1, 134.1; 435/69.1, 325, 320.1
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
U.S. : 530/350, 387.1, 397, 399; 514/2, 44; 424/130.1, 134.1; 435/69.1, 325, 320.1

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
Please See Continuation Sheet

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 6,165,476 (STROM et al.) 26 December 2000 (12.26.2000), abstract; column 3, line 40-column 5, line 52; column 6, lines 15-36 and lines 40-66; column 12, line 45-column 13, line 37 and column 13, line 40-column 15, line 30.	4, 18, 21-32, 34-40
Y	US 6,153,190 (YOUNG et al.) 28 November 2000 (28.11.2000), abstract; column 2, lines 5-45; column 4, lines 29-65; column 5, lines 8-16; column 6, lines 1-66; column 7, line 65-column 8, line 55 and column 12-column 14.	33

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier application or patent published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
16 November 2005 (16.11.2005)	11 MAR 2006
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US Commissioner for Patents P.O. Box 1450 Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. (571) 273-3201	Authorized officer Regina M. DeBerry Telephone No. (703) 308-0196

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US04/28976

Continuation of B. FIELDS SEARCHED Item 3:
WEST, keywords include: EPO, erythropoietin, CH2, CH3 and antibodies, hinge, linker, fusion protein, variable and immunoglobulin

UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

UNITED STATES DEPARTMENT OF COMMERCE
United States Patent and Trademark Office
Address: COMMISSIONER FOR PATENTS
P.O. Box 1450
Alexandria, Virginia 22313-1450
www.uspto.gov

APPL NO.	FILING OR 371 (c) DATE	ART UNIT	FIL FEE RECD	ATTY.DOCKET NO	DRAWINGS	TOT CLMS	IND CLMS
60/507,349	09/30/2003		160	CEN 5039	172		

CONFIRMATION NO. 4389

000027777
PHILIP S. JOHNSON
JOHNSON & JOHNSON
ONE JOHNSON & JOHNSON PLAZA
NEW BRUNSWICK, NJ 08933-7003

RECEIVED
DEC 16 2004
J&J PAT. DKT. SECTION

CORRECTED FILING RECEIPT

OC000000014753207

Date Mailed: 12/14/2004

Receipt is acknowledged of this provisional Patent Application. It will not be examined for patentability and will become abandoned not later than twelve months after its filing date. Be sure to provide the U.S. APPLICATION NUMBER, FILING DATE, NAME OF APPLICANT, and TITLE OF INVENTION when inquiring about this application. Fees transmitted by check or draft are subject to collection. Please verify the accuracy of the data presented on this receipt. If an error is noted on this Filing Receipt, please write to the Office of Initial Patent Examination's Filing Receipt Corrections, facsimile number 703-746-9195. Please provide a copy of this Filing Receipt with the changes noted thereon. If you received a "Notice to File Missing Parts" for this application, please submit any corrections to this Filing Receipt with your reply to the Notice. When the USPTO processes the reply to the Notice, the USPTO will generate another Filing Receipt incorporating the requested corrections (if appropriate).

Applicant(s)

George A. Heavner, Malvern, PA;
David M. Knight, Berwyn, PA;
John Ghrayeb, Downingtown, PA;
Bernard J. Scallon, Collegeville, PA;
Thomas C. Nesspor, Limerick, PA;
ChiChi Huang, Radnor, PA;

Power of Attorney: None

If Required, Foreign Filing License Granted: 12/01/2003

The country code and number of your priority application, to be used for filing abroad under the Paris Convention, is US60/507,349

Projected Publication Date: None, application is not eligible for pre-grant publication

Non-Publication Request: No

Early Publication Request: No

Title

Human EPO mimetic hinge core mimetibodies, compositions, methods and uses

LICENSE FOR FOREIGN FILING UNDER
Title 35, United States Code, Section 184
Title 37, Code of Federal Regulations, 5.11 & 5.15

GRANTED

The applicant has been granted a license under 35 U.S.C. 184, if the phrase "IF REQUIRED, FOREIGN FILING LICENSE GRANTED" followed by a date appears on this form. Such licenses are issued in all applications where the conditions for issuance of a license have been met, regardless of whether or not a license may be required as set forth in 37 CFR 5.15. The scope and limitations of this license are set forth in 37 CFR 5.15(a) unless an earlier license has been issued under 37 CFR 5.15(b). The license is subject to revocation upon written notification. The date indicated is the effective date of the license, unless an earlier license of similar scope has been granted under 37 CFR 5.13 or 5.14.

This license is to be retained by the licensee and may be used at any time on or after the effective date thereof unless it is revoked. This license is automatically transferred to any related applications(s) filed under 37 CFR 1.53(d). This license is not retroactive.

The grant of a license does not in any way lessen the responsibility of a licensee for the security of the subject matter as imposed by any Government contract or the provisions of existing laws relating to espionage and the national security or the export of technical data. Licensees should apprise themselves of current regulations especially with respect to certain countries, of other agencies, particularly the Office of Defense Trade Controls, Department of State (with respect to Arms, Munitions and Implements of War (22 CFR 121-128)); the Office of Export Administration, Department of Commerce (15 CFR 370.10 (j)); the Office of Foreign Assets Control, Department of Treasury (31 CFR Parts 500+) and the Department of Energy.

NOT GRANTED

No license under 35 U.S.C. 184 has been granted at this time, if the phrase "IF REQUIRED, FOREIGN FILING LICENSE GRANTED" DOES NOT appear on this form. Applicant may still petition for a license under 37 CFR 5.12, if a license is desired before the expiration of 6 months from the filing date of the application. If 6 months has lapsed from the filing date of this application and the licensee has not received any indication of a secrecy order under 35 U.S.C. 181, the licensee may foreign file the application pursuant to 37 CFR 5.15(b).

PATENT COOPERATION TREATY

RECEIVED
MAR 0 6 2006
J&J PAT. DKT. SECTION

From the
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

To:
PHILIP S. JOHNSON
ONE JOHNSON & JOHNSON PLAZA
NEW BRUNSWICK, NJ 08933

PCT

WRITTEN OPINION OF THE INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

(PCT Rule 43*bis*.1)

Date of mailing (*day/month/year*)	01 MAR 2006
Applicant's or agent's file reference CEN5039PCT	FOR FURTHER ACTION See paragraph 2 below

International application No.	International filing date (*day/month/year*)	Priority date (*day/month/year*)
PCT/US04/28976	03 September 2004 (03.09.2004)	03 September 2003 (03.09.2003)

International Patent Classification (IPC) or both national classification and IPC

IPC(8): C07K 14/00, 16/46; A61K 38/00, 37/00; 39/00, C12N 5/00, 15/00 and US Cl.: 530/350, 387.1, 397, 399; 514/2, 44; 424/130.1, 134.1; 435/69.1, 325, 320.1

Applicant

CENTOCOR, INC.

1. This opinion contains indications relating to the following items:

- ☒ Box No. I — Basis of the opinion
- ☐ Box No. II — Priority
- ☒ Box No. III — Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- ☐ Box No. IV — Lack of unity of invention
- ☒ Box No. V — Reasoned statement under Rule 43*bis*.1(a)(i) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- ☐ Box No. VI — Certain documents cited
- ☐ Box No. VII — Certain defects in the international application
- ☐ Box No. VIII — Certain observations on the international application

2. FURTHER ACTION

If a demand for international preliminary examination is made, this opinion will be considered to be a written opinion of the International Preliminary Examining Authority ("IPEA") except that this does not apply where the applicant chooses an Authority other than this one to be the IPEA and the chosen IPEA has notified the International Bureau under Rule 66.1*bis*(b) that written opinions of this International Searching Authority will not be so considered.

If this opinion is, as provided above, considered to be a written opinion of the IPEA, the applicant is invited to submit to the IPEA a written reply together, where appropriate, with amendments, before the expiration of 3 months from the date of mailing of Form PCT/ISA/220 or before the expiration of 22 months from the priority date, whichever expires later.

For further options, see Form PCT/ISA/220.

3. For further details, see notes to Form PCT/ISA/220.

Name and mailing address of the ISA/US	Date of completion of this opinion	Authorized officer
Mail Stop PCT, Attn: ISA/US Commissioner for Patents P.O. Box 1450 Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. (571) 273-3201	16 November 2005 (16.11.2005)	Regina M. DeBerry Telephone No. (703) 308-0196

Form PCT/ISA/237 (cover sheet) (April 2005)

WRITTEN OPINION OF THE INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

International application No.
PCT/US04/28976

Box No. I Basis of this opinion

1 With regard to the language, this opinion has been established on the basis of:

☒ the international application in the language in which it was filed

☐ a translation of the international application into _____, which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1(b)).

2. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application and necessary to the claimed invention, this opinion has been established on the basis of:

a. type of material

☒ a sequence listing

☒ table(s) related to the sequence listing

b. format of material

☒ on paper

☒ in electronic form

c. time of filing/furnishing

☒ contained in the international application as filed.

☒ filed together with the international application in electronic form.

☐ furnished subsequently to this Authority for the purposes of search.

3. ☒ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing and/or table(s) relating thereto has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

4. Additional comments:

A Raw Sequence Listing Error Report was entered (14 September 2004). The Computer Readable Form (CRF) is flawed and was not entered into the database.

WRITTEN OPINION OF THE INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

International application No.
PCT/US04/28976

Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability

The questions whether the claimed invention appears to be novel, to involve an inventive step (to be non-obvious), or to be industrially applicable have not been examined in respect of:

☐ the entire international application

☒ claims Nos. 1-3,5-17,19 and 20

because:

☐ the said international application, or the said claim Nos. _____ relate to the following subject matter which does not require an international search *(specify)*:

☐ the description, claims or drawings *(indicate particular elements below)* or said claims Nos. _____ are so unclear that no meaningful opinion could be formed *(specify)*:

☒ the claims, or said claims Nos. 1-3,5-17,19 and 20 are so inadequately supported by the description that no meaningful opinion could be formed *(specify)*:

☐ no international search report has been established for said claims Nos. _____

☐ a meaningful opinion could not be formed without the sequence listing; the applicant did not, within the prescribed time limit:

- ☐ furnish a sequence listing on paper complying with the standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions, and such listing was not available to the International Searching Authority in a form and manner acceptable to it.
- ☐ furnish a sequence listing in electronic form complying with the standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions, and such listing was not available to the International Searching Authority in a form and manner acceptable to it.
- ☐ pay the required late furnishing fee for the furnishing of a sequence listing in response to an invitation under Rules 13*ter*.1(a) or (b).

☐ a meaningful opinion could not be formed without the tables related to the sequence listings; the applicant did not, within the prescribed time limit, furnish such tables in electronic form complying with the technical requirements provided for in Annex C-*bis* of the Administrative Instructions, and such tables were not available to the International Searching Authority in a form and manner acceptable to it.

☐ the tables related to the nucleotide and/or amino acid sequence listing, if in electronic form only, do not comply with the technical requirements provided for in Annex C-*bis* of the Administrative Instructions.

☐ See Supplemental Box for further details.

WRITTEN OPINION OF THE INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

International application No.
PCT/US04/28976

Box No. V Reasoned statement under Rule 43 *bis*.1(a)(i) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Claims 4, 18, 21-40	YES
	Claims NONE	NO
Inventive step (IS)	Claims NONE	YES
	Claims 4, 18, 21-40	NO
Industrial applicability (IA)	Claims 4, 18, 21-40	YES
	Claims NONE	NO

2. Citations and explanations:

Claims 4, 18, 21-40 lack an inventive step under PCT Article 33(3) as being obvious over Strom et al., US 6,165,476 in view of Young et al., US 6,153,190. Strom et al. teach the production and use of fusion proteins with an immunoglobulin hinge region linker (abstract). Strom et al. teach light, heavy and variable regions. Strom et al. teach immunoglobulins and hinge regions (column 3, line 40-column 5, line 52). Strom et al. teach fusion constructs comprising erythropoietin (EPO) and IL-3 (column 6, lines 15-36) and EPO homofusion proteins (column 13, line 40-column 15, line 30). Strom et al. teach recombinant methods of making the protein (column 6, lines 40-66). Strom et al. teach that the fusion protein can be used to treat anemia. Strom et al. teach various routes of administration. Strom et al. teach nebulizers or dispensers for administering the pharmaceutical composition (column 12, line 45-column 13, line 37). Strom et al. do not teach effective amounts of administered EPO antibodies

Young et al. teach methods for generating antibodies (humanized, chimeric, polyclonal and monoclonal). Young et al. teach a recombinant multimeric immunogen (column 2, lines 5-45). Young et al. teach bridging moieties (CH2 CH3) (column 4, lines 29-65 and column 5, lines 8-16 column 6, lines 1-66). Young et al. teach host cells (column 7, line 65-column 8, line 9). Young et al. teach how to make a heterodimeric receptor immunogen (column 8, lines 37-55). Young et al. teach that the instant compound can be used in therapeutics, diagnostic and research (column 12, line 57-column 13, line 50). Young et al. teach various methods of administering (column 13, line 65-column 14, line 15). Young et al. teach effective amounts of antibody (column 14, lines 16-26).

It would have been obvious to one of skill in the art at the time the invention was made to modify the method of administering EPO fusion proteins as suggested by Strom et al. by using the antibody teachings and effective amounts of administering antibodies as suggested by Young et al. with a reasonable amount of success. The motivation is provided by Strom and Young, in that both teach that the constructs can be used in pharmaceutical compositions to treat disease.

Claims 4, 18, 21-40 meet the criteria set out in PCT Article 33(4), and thus have industrial applicability because the subject matter claimed can be made or used in industry.

NOTES TO FORM PCT/ISA/220 (continued)

The letter must indicate the differences between the claims as filed and the claims as amended. It must, in particular, indicate, in connection with each claim appearing in the international application (it being understood that identical indications concerning several claims may be grouped), whether

(i) the claim is unchanged;

(ii) the claim is cancelled;

(iii) the claim is new;

(iv) the claim replaces one or more claims as filed;

(v) the claim is the result of the division of a claim as filed.

The following examples illustrate the manner in which amendments must be explained in the accompanying letter:

1 [Where originally there were 48 claims and after amendment of some claims there are 51]:
"Claims 1 to 29, 31, 32, 34, 35, 37 to 48 replaced by amended claims bearing the same numbers; claims 30, 33 and 36 unchanged; new claims 49 to 51 added."

2. [Where originally there were 15 claims and after amendment of all claims there are 11]:
"Claims 1 to 15 replaced by amended claims 1 to 11."

3. [Where originally there were 14 claims and the amendments consist in cancelling some claims and in adding new claims]:
"Claims 1 to 6 and 14 unchanged; claims 7 to 13 cancelled; new claims 15, 16 and 17 added." or
"Claims 7 to 13 cancelled; new claims 15, 16 and 17 added; all other claims unchanged."

4. [Where various kinds of amendments are made]:
"Claims 1-10 unchanged; claims 11 to 13, 18 and 19 cancelled; claims 14, 15 and 16 replaced by amended claim 14; claim 17 subdivided into amended claims 15, 16 and 17; new claims 20 and 21 added."

"Statement under Article 19(1)" (Rule 46.4)

The amendments may be accompanied by a statement explaining the amendments and indicating any impact that such amendments might have on the description and the drawings (which cannot be amended under Article 19(1)).

The statement will be published with the international application and the amended claims.

It must be in the language in which the international application is to be published.

It must be brief, not exceeding 500 words if in English or if translated into English.

It should not be confused with and does not replace the letter indicating the differences between the claims as filed and as amended. It must be filed on a separate sheet and must be identified as such by a heading, preferably by using the words "Statement under Article 19(1)."

It may not contain any disparaging comments on the international search report or the relevance of citations contained in that report. Reference to citations, relevant to a given claim, contained in the international search report may be made only in connection with an amendment of that claim.

Consequence if a demand for international preliminary examination has already been filed

If, at the time of filing any amendments and any accompanying statement, under Article 19, a demand for international preliminary examination has already been submitted, the applicant must preferably, at the time of filing the amendments (and any statement) with the International Bureau, also file with the International Preliminary Examining Authority a copy of such amendments (and of any statement) and, where required, a translation of such amendments for the procedure before that Authority (see Rules 55.3(a) and 62.2, first sentence). For further information, see the Notes to the demand form (PCT/IPEA/401).

If a demand for international preliminary examination is made, the written opinion of the International Searching Authority will, except in certain cases where the International Preliminary Examining Authority did not act as International Searching Authority and where it has notified the International Bureau under Rule 66.1*bis*(b), be considered to be a written opinion of the International Preliminary Examining Authority. If a demand is made, the applicant may submit to the International Preliminary Examining Authority a reply to the written opinion together, where appropriate, with amendments before the expiration of 3 months from the date of mailing of Form PCT/ISA/220 or before the expiration of 22 months from the priority date, whichever expires later (Rule 43*bis*.1(c)).

Consequence with regard to translation of the international application for entry into the national phase

The applicant's attention is drawn to the fact that, upon entry into the national phase, a translation of the claims as amended under Article 19 may have to be furnished to the designated/elected Offices, instead of, or in addition to, the translation of the claims as filed.

For further details on the requirements of each designated/elected Office, see the *PCT Applicant's Guide*, Volume II.

340

PATENT CO PERATION TREATY

From the INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

To:
PHILIP S. JOHNSON
ONE JOHNSON & JOHNSON PLAZA
NEW BRUNSWICK, NJ 08933

RECEIVED
MAR 0 6 2006
J&J PAT. DKT. SECTION

PCT

NOTIFICATION OF TRANSMITTAL OF THE INTERNATIONAL SEARCH REPORT AND THE WRITTEN OPINION OF THE INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY, OR THE DECLARATION

(PCT Rule 44.1)

Applicant's or agent's file reference CEN5039PCT	Date of mailing (day/month/year) 01 MAR 2006 FOR FURTHER ACTION See paragraphs 1 and 4 below
International application No. PCT/US04/28976	International filing date (day/month/year) 03 September 2004 (03.09.2004)
Applicant CENTOCOR, INC.	

1. ☒ The applicant is hereby notified that the international search report and the written opinion of the International Searching Authority have been established and are transmitted herewith.

   Filing of amendments and statement under Article 19:
   The applicant is entitled, if he so wishes, to amend the claims of the international application (see Rule 46):

   When? The time limit for filing such amendments is normally two months from the date of transmittal of the international search report.

   Where? Directly to the International Bureau of WIPO, 34 chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland, Facsimile No.: (41-22) 338.82.70.

   For more detailed instructions, see the notes on the accompanying sheet.

2. ☐ The applicant is hereby notified that no international search report will be established and that the declaration under Article 17(2)(a) to that effect and the written opinion of the International Searching Authority are transmitted herewith.

3. ☐ With regard to the protest against payment of (an) additional fee(s) under Rule 40.2, the applicant is notified that:

   ☐ the protest together with the decision thereon has been transmitted to the International Bureau together with the applicant's request to forward the texts of both the protest and the decision thereon to the designated Offices.

   ☐ no decision has been made yet on the protest; the applicant will be notified as soon as a decision is made.

4. **Reminders**

   Shortly after the expiration of 18 months from the priority date, the international application will be published by the International Bureau. If the applicant wishes to avoid or postpone publication, a notice of withdrawal of the international application, or of the priority claim, must reach the International Bureau as provided in Rules 90*bis*.1 and 90*bis*.3, respectively, before the completion of the technical preparations for international publication.

   The applicant may submit comments on an informal basis on the written opinion of the International Searching Authority to the International Bureau. The International Bureau will send a copy of such comments to all designated Offices unless an international preliminary examination report has been or is to be established. These comments would also be made available to the public but not before the expiration of 30 months from the priority date.

   Within 19 months from the priority date, but only in respect of some designated Offices, a demand for international preliminary examination must be filed if the applicant wishes to postpone the entry into the national phase until 30 months from the priority date (in some Offices even later); otherwise, the applicant must, within 20 months from the priority date, perform the prescribed acts for entry into the national phase before those designated Offices.

   In respect of other designated Offices, the time limit of 30 months (or later) will apply even if no demand is filed within 19 months.

   See the Annex to Form PCT/IB/301 and, for details about the applicable time limits, Office by Office, see the *PCT Applicant's Guide*, Volume II, National Chapters and the WIPO Internet site.

Name and mailing address of the ISA/ US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US Commissioner for Patents P.O. Box 1450 Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. (571) 273-3201	Authorized officer Regina M. DeBerry Telephone No. (703) 308-0196

Form PCT/ISA/220 (January 2004) *(See notes on accompanying sheet)*

PATENT COOPERATION TREATY

From the INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

To:
PHILIP S. JOHNSON
ONE JOHNSON & JOHNSON PLAZA
NEW BRUNSWICK, NJ 08933

PCT

NOTIFICATION OF TRANSMITTAL OF THE INTERNATIONAL SEARCH REPORT AND THE WRITTEN OPINION OF THE INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY, OR THE DECLARATION

(PCT Rule 44.1)

	Date of mailing (*day/month/year*)
Applicant's or agent's file reference CEN5039PCT	**FOR FURTHER ACTION** See paragraphs 1 and 4 below
International application No. PCT/US04/28976	International filing date (*day/month/year*) 03 September 2004 (03.09.2004)
Applicant CENTOCOR, INC.	

1. ☒ The applicant is hereby notified that the international search report and the written opinion of the International Searching Authority have been established and are transmitted herewith.

   Filing of amendments and statement under Article 19:
   The applicant is entitled, if he so wishes, to amend the claims of the international application (see Rule 46):

   When? The time limit for filing such amendments is normally two months from the date of transmittal of the international search report.

   Where? Directly to the International Bureau of WIPO, 34 chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland, Facsimile No.: (41-22) 338.82.70.

   For more detailed instructions, see the notes on the accompanying sheet.

2. ☐ The applicant is hereby notified that no international search report will be established and that the declaration under Article 17(2)(a) to that effect and the written opinion of the International Searching Authority are transmitted herewith.

3. ☐ With regard to the protest against payment of (an) additional fee(s) under Rule 40.2, the applicant is notified that:

   ☐ the protest together with the decision thereon has been transmitted to the International Bureau together with the applicant's request to forward the texts of both the protest and the decision thereon to the designated Offices.

   ☐ no decision has been made yet on the protest; the applicant will be notified as soon as a decision is made.

4. **Reminders**

   Shortly after the expiration of 18 months from the priority date, the international application will be published by the International Bureau. If the applicant wishes to avoid or postpone publication, a notice of withdrawal of the international application, or of the priority claim, must reach the International Bureau as provided in Rules 90*bis*.1 and 90*bis*.3, respectively, before the completion of the technical preparations for international publication.

   The applicant may submit comments on an informal basis on the written opinion of the International Searching Authority to the International Bureau. The International Bureau will send a copy of such comments to all designated Offices unless an international preliminary examination report has been or is to be established. These comments would also be made available to the public but not before the expiration of 30 months from the priority date.

   Within 19 months from the priority date, but only in respect of some designated Offices, a demand for international preliminary examination must be filed if the applicant wishes to postpone the entry into the national phase until 30 months from the priority date (in some Offices even later); otherwise, the applicant must, within 20 months from the priority date, perform the prescribed acts for entry into the national phase before those designated Offices.

   In respect of other designated Offices, the time limit of 30 months (or later) will apply even if no demand is filed within 19 months.

   See the Annex to Form PCT/IB/301 and, for details about the applicable time limits, Office by Office, see the *PCT Applicant's Guide*, Volume II, National Chapters and the WIPO Internet site.

Name and mailing address of the ISA/ US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US Commissioner for Patents P.O. Box 1450 Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. (571) 273-3201	Authorized officer Regina M. DeBerry Telephone No. (703) 308-0196

Form PCT/ISA/220 (January 2004) (*See notes on accompanying sheet*)

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
Rad: 06-038331- -00000-0000 Fec: 2006-04-24 14:03:0
Dep: 2020 NUECREACIONES
Tra: 11 PATENTEIYII Eve 378 FASENACIONALI
Act 411 PRESENTACION Folios: 343

344
342

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

Delegatura de Propiedad Industrial
División de Nuevas Creaciones

REQUISITOS NECESARIOS PARA PRESENTACIÓN Y AGILIZACIÓN DEL TRAMITE

	USUARIO	RADICADOR
PATENTE DE INVENCIÓN (✓) MODELO DE UTILIDAD ( )	( )	( )
-Indicación de que se solicita la concesión de una patente. ✓	( )	(✓)
-Datos de identificación del solicitante o de la persona que se ✓ presenta la solicitud.	( )	(✓)
-Descripción de la invención. ✓	( )	(✓)
-Dibujos de ser estos pertinentes. X	( )	(X)
-Comprobante de Pago de las tasas establecidas. ✓	( )	(✓)
COMPLETA ( ) INCOMPLETA ( )	( )	( )
DISEÑO INDUSTRIAL ( )		
-Indicación de que se solicita el registro de Diseño Industrial.	( )	( )
-Datos de identificación del solicitante o de la persona que se 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 ( )		
-Indicación de que se solicita el registro de Diseño Industrial.	( )	( )
-Datos de identificación del solicitante o de la persona que se presenta la solicitud.	( )	( )
-Representación gráfica del Esquema Trazado.	( )	( )
-Comprobante de Pago de las tasas establecidas.	( )	( )
COMPLETA ( ) INCOMPLETA ( )	( )	( )

Firma Responsable: _____

Fecha: Abril 24 de 2006.