

Organización CSA Ltda

Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
INVENTARIO

SOLICITUD

PATENTE DE INVENCION

08 - 8980

21. EXPEDIENTE No.

54. TITULO "MÉTODO PARA LA PREDICCIÓN DE LA RESPUESTA A
UN TRATAMIENTO CON UN INHIBIDOR DE LA
DIMERIZACIÓN DE HER"

51. CLASIFICACION INTERNACIONAL C12Q 1/68

71. SOLICITANTE **F.HOFFMANN-LA ROCHE AG.**

DOMICILIO Basilea, Suiza

74. REPRESENTANTE LEGAL ALICIA LLOREDA RICAURTE
T.P. 53.215

22. BOGOTA, D.C. 30 ENE 2008

(FORMA P 10)

PETITORIO



SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 08-008980-00000-0000

Fecha: 2008-01-30 16:28:18 Dep. 2020 NUECREACK
Tra. 11 PATENTE IYI Eve: 378 FASE NACIONAL
Act. 411 PRESENTACION: Folios: 228

FORMULARIO UNICO DE SOLICITUD DE PATENTE

PCT

ENTRADA EN FASE NACIONAL

12 Mayo 2008

1

SOLICITUD DE:



Patente de Invención



Patente de Modelo de Utilidad



Capítulo I.



Capítulo II.

2

SOLICITANTE (71)

Nombre: F.HOFFMANN-LA ROCHE AG

Dirección: Grenzacherstrasse 124, CH-4070
Basilea, Suiza.

Nacionalidad o Domicilio: Basilea, Suiza

Lugar de Constitución: Suiza

Teléfono: 3264270 Fax: 6069701

E-mail: jllcco@lloredacamacho.com

IDENTIFICACION

C.C.



NIT



C.E.



Otro



Cual

Número

3

REPRESENTANTE O APODERADO

Nombre: ALICIA LLOREDICAURTE

Dirección: Calle 72 No. 5-83 Piso 5º,
Bogotá- Colombia

Teléfono: 3264270 Fax: 6069701

E-mail: jllcco@lloredacamacho.com

C.C.



NIT



C.E.



Otro



Cual

Número 39.690.713, TP 53.215

4

INVENTOR(ES) (72)

Nombre: MOECKS, Joachim; STRAUSS, Andreas y ZUGMAIER, Gerhard.

Dirección: Max-Joseph-Strasse 9, 68167 Mannheim; Ruhe am Bach 5b, 82377
Penzberg y Bavariastrasse 9A, 80336 Muenchen.

Nacionalidad o Domicilio: Alemania.

5

PCT (86)

Solicitud Internacional No. PCT/EP2006/004950

Fecha: 24/05/06

Publicación Internacional No. WO 2007/019899 A3

Fecha: 22/02/07

6

Título (54) MÉTODO PARA LA PREDICCIÓN DE LA RESPUESTA A UN TRATAMIENTO CON UN INHIBIDOR DE LA DIMERIZACIÓN DE HER

7

Clasificación Internacional (51) C12Q 1/68

8

Prioridad

SI



NO



(33) País de Origen

EP

(32) Fecha

12.08.2005

(31) Número de Solicitud

05017663.5

9

Comprobante de Pago No. 08-2,511

Fecha:

9 de Enero de 2008

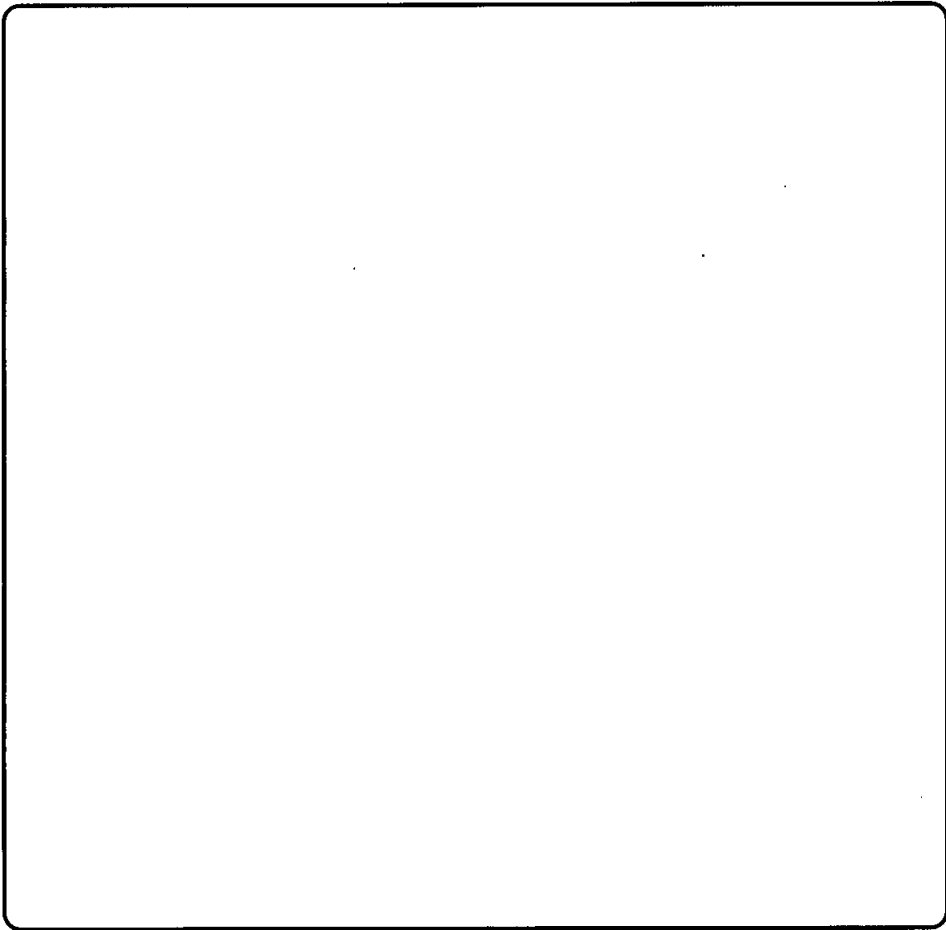
10

ANEXOS

- ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud.
- ☒ Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.
- ☒ Documento de Representación Legal.
- ☒ Documento de cesión de los inventores al solicitante o a su causante.
- ☐ Declaraciones.
- ☐ Copia de la solicitud internacional. (resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☒ Traducción de la solicitud internacional al castellano. (resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos y listado de secuencias)
- ☐ Copia del examen preliminar internacional sobre patentabilidad.
- ☐ Traducción del examen preliminar internacional sobre patentabilidad.
- ☐ De ser el caso, copia del contrato de acceso.
- ☐ De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.
- ☐ Arte Final 12X12.
- ☐ De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionados parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.
- ☐ De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional.
- ☒ Otros: Reporte de Búsqueda Internacional con su traducción, Publicación con su traducción, Notificaciones Registro de cambio con sus traducciones y Opinión escrita de la autoridad de búsqueda internacional con su traducción.

11

FIGURA CARACTERISTICA:



12

Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: ALICIA LLOREDA RICAURTE

FIRMA:

C.C. 39.690.713 Usaquén

T.P. 53.215

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 08 - 2,511
FECHA : ENERO 9 DE 2008

2

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

No. 08-008980- -00000-0000

Fecha: 2008-01-30 16:28:18 Dep. 2020 NUECREACIONE
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 228

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
LLORED A Y CIA S. A	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	2808790	09/01/2008	8,607,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-01	SOLICITUDES	
		1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	501,000.00
		TOTAL :	\$ 501,000.00

SON: QUINIENTOS UN MIL PESOS

RESPONSABLE :

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No.

2

3

ANEXO

El documento que acredita la calidad de REPRESENTANTES LEGALES en Bogotá de los doctores **ALICIA LLOREDA** y/o **GUSTAVO TAMAYO** y/o **IGNACIO SANTAMARIA** y/o **ENRIQUE ALVAREZ** para TODOS LOS ASUNTOS RELACIONADOS CON LA PROPIEDAD INDUSTRIAL de la sociedad peticionaria, que faculta a cada uno de dichos abogados para actuar individualmente, se esta presentando con esta solicitud. En consecuencia, ruego a usted reconocer la personería de cada uno de dichos Representantes Legales para actuar dentro del presente expediente, a fin de que cualquiera de ellos pueda intervenir en cualquier tiempo respecto de la solicitud en él contenida.


ALICIA LLOREDA RICAURTE

T.P. No. 53.215

TRADUCCION OFICIAL No.

de un documento escrito en Inglés, el cual para su identificación se sella con el sello de la traductora, lo mismo que la presente.-

Traducción de la apostilla en inglés que se encuentra a continuación de la legalización de las firmas de los señores Klausner y Strebel, representantes legales de F. Hoffmann-La Roche, que aparecen en un documento de Poder, escrito en español e inglés, conferido a ALICIA LLOREDA y/o GUSTAVO TAMAYO y/o IGNACIO SANTAMARIA y/o ENRIQUE ALVAREZ, expedida en idioma inglés por el notario Peter Kuster, bajo el No. 2004/20, el 17-08-2004, en Basilea, Suiza.

AUTENTICACION OFICIAL

(Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

1. País: Suiza

Este documento público

2. Ha sido firmado por el Lic. iur. Peter Kuster

3. Actuando en calidad de notario público

4. Lleva el sello del mencionado notario

Certificado

5. en Basel (Basilea)

6. el 18 de agosto 2004

7. por la Cancillería de Estado del Cantón de Basel-Stadt

8. bajo el No 8835/13376

9. Sello

Cancillería de Estado

de la ciudad de Basel (Basilea)

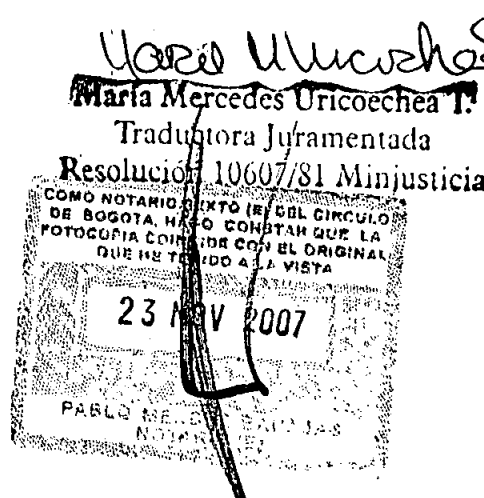
10. Firma

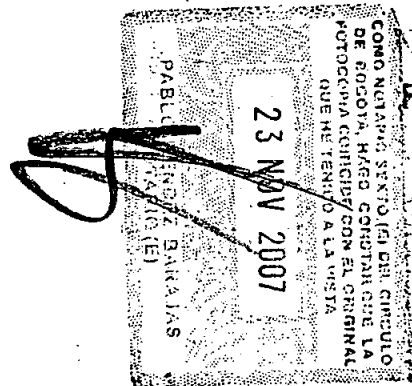
Fdo.: firma ilegible

Ruedi Eggs

ES TRADUCCION FIEL Y COMPLETA, de la cual se deja copia en los archivos de estas oficinas para su confrontación.

Bogotá, 2 de septiembre 2004





MINISTERIO DE
RELACIONES EXTERIORES

258651
Ramiro Uncochea
CUYA FIRMA APARECE EN EL
DOCUMENTO DESEMPEÑA
LAS FUNCIONES INDICADAS

NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

2004 SET - 3. P. 12:12

UCS
JEFE DE LEGALIZACIONES
BOGOTA D.C.

Los abajo firmados, **F.HOFFMANN-LA ROCHE AG**, una sociedad organizada y existente de conformidad con las leyes de Suiza.

con domicilio en **4070 Basilea, Suiza**

nombramos por el presente a **ALICIA LLOREDA y/o GUSTAVO TAMAYO y/o IGNACIO SANTAMARIA y/o ENRIQUE ALVAREZ**, domiciliados en Bogotá, Colombia, con oficinas en dicha ciudad, Calle 72 No. 5-83, piso 6o., nuestros representantes legales y verdaderos en Bogotá, con facultades para recibir notificaciones y nombrar apoderados judiciales o extrajudiciales, con el fin de dar cumplimiento al parágrafo 1o. del artículo 543 del decreto 410 de 1971.

Los doctores **ALICIA LLOREDA y/o GUSTAVO TAMAYO y/o IGNACIO SANTAMARIA y/o ENRIQUE ALVAREZ**, o los apoderados que cualquiera de ellos designe, quedan especialmente facultados para representarnos ante las autoridades colombianas, administrativas, judiciales o de policía, en todos los trámites relativos a la propiedad industrial, a cuyo efecto les facultamos para dar ante dichas autoridades todos los pasos necesarios al objeto indicado; elevar solicitudes, declaraciones, reclamos, recursos y presentar desistimientos; formular descripciones, enmiendas, limitar el alcance de las solicitudes, presentar oposiciones y apelaciones; instaurar cancelaciones, renunciar total o parcialmente a los registros, abonar todos los impuestos y cuotas y efectuar todo otro pago determinado por la ley; recibir todos los documentos y valores, dando el descargo respectivo; llenar cualesquiera otros requisitos y tomar, en fin, todas las medidas que creyeren conducentes al resguardo de nuestros intereses; y en caso de producirse oposición, pasando los antecedentes a los tribunales, quedan facultados para tomar intervención como demandantes o demandados ante los jueces que sean competentes, pudiendo transar, someter a árbitros, desistir, percibir y apelar, con todas las demás facultades que resulten necesarias, y por el presente declaramos desde ahora válido y bueno cuanto dichos representantes y/o los apoderados que cualquiera de ellos nombre hicieren en nuestro beneficio.

Asimismo, facultamos a los doctores **ALICIA LLOREDA y/o GUSTAVO TAMAYO y/o IGNACIO SANTAMARIA y/o ENRIQUE ALVAREZ**, para solicitar en la Oficina de Propiedad Industrial la protocolización de este documento y de cualquier poder que cualquiera de ellos otorgue a nombre nuestro.

Dado y firmado

The undersigned, **F.HOFFMANN-LA ROCHE AG**, a corporation organized and existing under the laws of Switzerland.

domiciled at **4070 Basel, Switzerland**

hereby appoint, **ALICIA LLOREDA and/or GUSTAVO TAMAYO and/or IGNACIO SANTAMARIA and/or ENRIQUE ALVAREZ**, of Bogotá, Colombia, with offices in said town, Calle 72 No. 5-83, Sixth Floor, our true and legal representatives in Bogotá, with power to receive notifications and to appoint judicial or extrajudicial agents, so as to comply with paragraph 1o. of article 543 of decree 410 of 1971.

Doctors **ALICIA LLOREDA and/or GUSTAVO TAMAYO and/or IGNACIO SANTAMARIA and/or ENRIQUE ALVAREZ**, or the agents by any one of them appointed, are especially empowered to represent us before the administrative, judicial or police authorities of Colombia, in all proceedings pertaining to industrial property, for which purpose we authorize them to take before the said authorities all the necessary steps for the said end; to file petitions, declarations, claims, recourses and withdrawals, to draw up specifications; to file amendments, to limit the scope of applications, file oppositions; file cancellations total or partially waive registrations, to pay all installments and effect all other payments prescribed by law; to receive proper receipts, to comply with all other requirements and, in short, to take all those measures which they may deem fit for the protection of our interests; and in case of opposition, where the proceedings be passed over to the courts, we authorize said agents to act on our behalf, as complainants as well as defendants, before the competent judges, with full powers to make arrangements, to submit to arbitrators, to desist, to collect, to appeal and, in short, with all such further powers as may be required, and we hereby declare from now on as valid and good all that said representatives and/or the agents by any one of them appointed may do for our benefit.

COMO NOTARIO DEL CIRCULO
DE BOGOTA, COLOMBIA, CONSTAR QUE LA
FOTOCOPIA COINCIDE CON EL ORIGINAL
QUE HE TENIDO A LA VISTA

23 NOV 2007

We also authorize doctors **ALICIA LLOREDA and/or GUSTAVO TAMAYO and/or IGNACIO SANTAMARIA and/or ENRIQUE ALVAREZ**, to apply for protocolization of this document and of any power of attorney by any one of them conferred in our name, before the Office of Industrial Property.

Given and signed this *14th day of August 2008*
F. Hoffmann-La Roche AG

Fridolin Klausner
Fridolin Klausner
Holder of procuration

Denise Streb
Denise Streb
Mandatory

NOTIFICADO NOTARIAL (SOCIEDAD)

Suiza
Basilea

{ss}

Hoy 17 de Agosto de 2004, compareció Fridolin Klausner y Denise Strebel a quien conozco y de quien me consta que firmó el anterior documento, y quien debidamente juramentado declaró y dijo que él es titular del poder/mandatario de F.HOFFMANN-LA ROCHE AG, la compañía nombrada en el documento que antecede, una sociedad debidamente organizada y existente conforme a las leyes de Suiza, domiciliada en la ciudad de Basilea, Suiza, legalmente constituida para un período de duración que aún no ha terminado, que ejerce su objeto social; conforme a las leyes de Suiza; que el declarante está autorizado por dicha Compañía para conferir este poder; que el sello estampado por él al pie de tal poder, en nombre y en representación de la expresada Compañía, es el sello oficial de ella; y que el objeto para el cual se confiere este instrumento está comprendido dentro del de la sociedad.

El suscrito Notario ha visto los Estatutos de incorporación firmados en Suiza, ciudad de Basilea, con fecha 19 Junio 1997, y certifica que de conformidad con la legislación de dicho País, la anterior declaración juramentada es prueba suficiente de que los hechos sobre que ella versa son ciertos o verdaderos, de lo cual da fe.

Notary Public (Notario Público).



Allg. Prot. No. 20

NOTARIAL CERTIFICATE (CORPORATION)

Switzerland
Basel

{ss}

On this 17th day of August 2004 personally Fridolin Klausner and Denise Strebel came both Swiss citizens and Swiss residents, to me known, and known to me to be the person who signed the foregoing instrument, who being by me duly sworn did depose and say that he is the Holder of

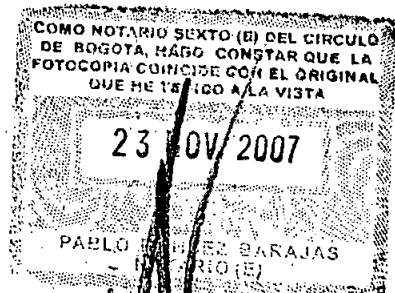
Procuration/Mandatory of F.HOFFMANN-LA ROCHE AG, the company named within, a Corporation organized and existing under the laws of the Switzerland, domiciled at the City of Basel, legally constituted for a period of tenure not yet expired, which exercises its corporate purposes according to the laws of Switzerland; that the deponent is authorized by said Company to confer this power of attorney; that the seal affixed hereunto by the deponent in the name and on behalf of said Corporation is the corporate seal thereof; and that the purpose for which this instrument is granted is included within the corporate purposes of the Company.

The undersigned Notary Public has seen the articles of Incorporation of said Corporation executed at Suiza, ciudad de Basel, under date of 19th day of June 1997, and hereby certifies that under the laws of said Country the foregoing acknowledgment is sufficient proof that the facts therein contained are true, which he attests.

Basel, this 17-08-2004 (seventeenth day of two thousand and four)

Dr. P. Kuster
Notar

Dr. Peter Kuster
Advokat und Notar
Peterskirchplatz 12
Postfach
CH-4001 Basel



OFFICIAL AUTHENTICATION
(Hague Convention of October 5th, 1961)

1. Country: Switzerland (Schweiz/Suisse)
This official document

2. is signed by P. Müller

3. in his/her function as Att. Möller

4. and certified by the seal of the Gemeinde

Certified 18. Aug. 2004

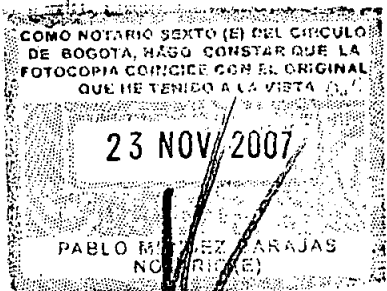
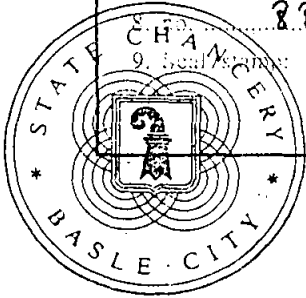
5. in Basel (Bâle) 6. on

7. by the State Chancery of the Canton of Basel-Stadt

8835 / 11 226

9. Seal/Stamp

10. Signature: [Signature]



		SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO DIVISION DE NUEVAS CREACIONES EXTRACTO PARA PUBLICACIÓN SOLICITUD DE PATENTE DE INVENCION PCT	
(21) N° de solicitud: (22) Fecha de solicitud: 30-01-08		(51) Int Cl: C12Q 1/68 (71) Solicitante(s) F.HOFFMANN-LA ROCHE AG (72) Inventor(es) MOECKS, Joachim; STRAUSS, Andreas y ZUGMAIER, Gerhard.	
(30) Prioridad (31) No. Prioridad 32) Fecha (33) País 05017663.5 12-08-05 EP		(74) Apoderado: ALICIA LLOREDA RICAURTE	
(85) Fecha limite inicio fase nacional: 12-03-08 (86) Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT Fecha de presentación de la solicitud: 24-05-2006 No. de solicitud PCT/EP2006/004950		(87) Publicación internacional Fecha: 22-02-2007 N° publicación: WO2007/019899 A3	
(54) Título: MÉTODO PARA LA PREDICCIÓN DE LA RESPUESTA A UN TRATAMIENTO CON UN INHIBIDOR DE LA DIMERIZACIÓN DE HER			

Resumen - Reivindicación(es):

Reivindicación número 1.-

Un método para predecir la respuesta a un tratamiento con un inhibidor de la dimerización de HER en un paciente, que comprende los pasos de

a) valorar en una muestra biológica de un paciente

- un gen marcador o una combinación de genes marcadores seleccionados de entre el grupo que consiste en el gen marcador del factor de crecimiento epidérmico, del factor de crecimiento transformante alfa y de HER2, o una

- combinación de genes marcadores que comprende un gen marcador de la anfiregulina y un gen marcador seleccionado de entre el gen marcador del factor de crecimiento epidérmico, del factor de crecimiento transformante alfa y de HER2 y

b) predecir la respuesta al tratamiento con el inhibidor de la dimerización de HER en el paciente mediante la evaluación de los resultados del paso a).

REPORTE DE BUSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud Internacional No.
PCT/EP2006/004950

A. CLASIFICACION DE MATERIA		
INV. C12Q 1/68 G01N 33/574		
Según la Clasificación de Patentes Internacional (CPI) o según la clasificación nacional y la CPI		
B. CAMPOS BUSCADOS		
Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de símbolos de clasificación) C12Q G01N		
Documentación buscada fuera de documentación mínima hasta donde dichos documentos se incluyan en los campos buscados		
Base de datos electrónica consultada durante la búsqueda internacional (nombre de la base de datos y, donde sea práctico, buscar términos usados) EPO-Interno, BIOSIS, EMBASE, Búsqueda de secuencia, Dato WPI, PAJ		
C. DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES		
Categoría °	Citación de documento, con indicación, donde sea apropiado, de los textos relevantes	Relevante a la reivindicación No.
X	US 2004/106161 A1 (BOSSENMAIER BIRGIT Y COL) 3 de junio de 2004 (2004-06-03) Resumen; párrafos 28-29, 79-83; Ejemplos 1-7; reivindicaciones 1-88.	1-29, 33-39
X	"La actividad In vivo de anticuerpos monoclonales recombinantes humanizados 2C4 en xenotransplantes es independiente del tipo de tumor y el grado de sobreexpresión de HER2" EUROPEAN JOURNAL OF CANCER, PERGAMON PRESS, OXFORD, GB, vol. 38, Noviembre 2002 (2002-11), páginas S149, XP004403941 ISSN: 0959-8049 resumen	1-29, 33-39
☒ En el recuadro C se enumeran más documentos. ☒ En el anexo se enumeran miembros de la familia de patentes.		
° Categorías especiales de documentos citados:		
'A' documento que define el estado general de la técnica el cual no se considera de relevancia		'T' documento posterior publicado después de la fecha de presentación internacional o fecha de prioridad y que no está en conflicto con la solicitud pero citado para entender el principio o teoría que sustenta la invención
'E' documento anterior pero publicado en o después de la fecha de presentación internacional		'X' documento de relevancia particular; la invención reivindicada no puede considerarse nueva o no puede considerarse que comprende un paso inventivo cuando el documento se toma solo
'L' documento que puede arrojar dudas sobre reivindicaciones de prioridad o que se cita para establecer la fecha de publicación de otra citación u otra razón especial (según se especifica)		'Y' documento de relevancia particular; la invención reivindicada no puede considerarse que comprende un paso inventivo cuando el documento se combina con uno o más documentos, siendo dicha combinación obvia para una persona experta en la técnica
'O' documento que se refiere a una revelación oral, uso, exhibición u otros medios		'&' documento miembro de la misma familia de patentes
'P' documento publicado antes de la fecha de presentación internacional pero después de la fecha de prioridad reivindicada		
Fecha de la terminación real de la búsqueda internacional 26 de Enero 2007		Fecha de envío por correo del reporte de búsqueda internacional 02/02/2007
Nombre y dirección de correo de ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL-2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Funcionario autorizado Aguilera, Miguel

REPORTE DE BUSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud Internacional No.
PCT/EP2006/004950

C. (Continuación) DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES		
Categoría °	Citación de documento, con indicación, donde sea apropiado, de los textos relevantes	Relevante a la reivindicación No.
X	US 2004/013667 A1 (KELSEY STEPHEN M Y COL) 22 de enero de 2004 (2004-01-22) ejemplo 11 ---	1-29, 33-39
X ^c	WILLEMS AMINA Y COL: "Terapia de anticuerpos para cáncer de Seno." ANTICANCER RESEARCH. 2005 MAYO-JUNIO, vol. 25, no. 3A, Mayo 2005 (2005-05), páginas 1483-1489, XP009057911 ISSN: 0250-7005 documento completo ---	1-29, 33-39
X	KÖSTLER WOLFGANG J Y COL: "Monitoreo de HER2/neu sérico predice la respuesta y la supervivencia libre de progresión a tratamiento basado en trastuzumab en pacientes con cáncer de seno metastático." CLINICAL CANCER RESEARCH; AN OFFICIAL JOURNAL OF THE AMERICAN ASSOCIATION FOR CANCER RESEARCH. 1 marzo 2004, vol. 10, no. 5, 1 de marzo de 2004 (2004-03-01), páginas 1618-1624, XP002378020 ISSN: 1078-0432 documento completo ----	1-29 33-39
X	MENARD SYLVIE Y COL: "Rol biológico y terapéutico del HER2 en cáncer." ONCOGENE, vol. 22, no. 42, 29 de septiembre de 2003 (2003-09-29), páginas 6570-6578, XP002378021 ISSN: 0950-9232 documento completo ----	1-29
X	BELL G I Y COL: "PRECURSOR DEL FACTOR DE CRECIMIENTO EPIDERMAL HUMANO: EXPRESIÓN IN VITRO DE LA SECUENCIA CDNA Y ORGANIZACIÓN GÉNICA." NUCLEIC ACIDS RESEARCH, OXFORD UNIVERSITY PRESS, SURREY, GB, vol. 14, no. 21, 1986, páginas 8427-8446, XP000829511 ISSN: 0305-1048 documento completo ----	25
X	DERYNCK R Y COL: "FACTOR DE CRECIMIENTO TRANSFORMANTE-ALFA HUMANO: ESTRUCTURA PRECURSORA Y EXPRESIÓN EN E.COLI" CELL, MIT PRESS, CAMBRIDGE, MA,, US, vol. 38, 1 de agosto de 1984 (1984-08-01), páginas 287-297, XP000650165 ISSN: 0092-8674 Materiales y sección de métodos ----	25

REPORTE DE BUSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud Internacional No.
PCT/EP2006/004950

C. (Continuación) DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES

Categoría °	Citación de documento, con indicación, donde sea apropiado, de los textos relevantes	Relevante a la reivindicación No.
X	COUSSENS L Y COL: "RECEPTOR DE TIROSINA QUINASA CON HOMOLOGIA EXTENSIVA AL RECEPTOR EGF COMPARTE LOCALIZACIÓN CROMOSOMAL CON EL ONCÓGENO NEU." SCIENCE, AMERICAN ASSOCIATION FOR THE ADVANCEMENT OF SCIENCE, US, vol. 230, no. 4730, 1985, páginas 1132-1139, XP009041156 ISSN: 0036-8075 Materiales y sección de métodos ----	25
X	SHOYAB M Y COL: "ESTRUCTURA Y FUNCIÓN DE ANFIRREGULINA HUMANA: UN MIEMBRO DE LA FAMILIA DEL FACTOR DE CRECIMIENTO EPIDERMAL" SCIENCE, AMERICAN ASSOCIATION FOR THE ADVANCEMENT OF SCIENCE, US, vol. 243, no. 4894, 24 de febrero de 1989 (1989-02-24), páginas 1074-1076, XP000574073 ISSN: 0036-8075 Materiales y sección de métodos ----	25
X	WO 2004/005544 A (NOVARTIS AG; NOVARTIS PHARMA GMBH; CHIBOUT, SALAH-DINE; GRENET, OLIVIE) 15 de enero de 2004 (2004-01-15) reivindicación 19 ----	26-29
Y	US 2004/157255 A1 (AGUS DAVID Y COL) 12 de agosto de 2004 (2004-08-12) resumen, párrafos 11 y 46, y reivindicaciones 1 y 11 ----	1-29, 33-39
Y	WO 2004/091384 A (ACLARA BIOSCIENCES, INC; CHAN-HUI, PO-YING; SALIMI-MOOSAVI, HOSSEIN; S) 28 de octubre de 2004 (2004-10-28) reivindicación 6; página 8, líneas 29-31; tabla II, página 19 ----	1-29, 33-39
Y	WO 2005/049829 A (ASTRAZENECA UK LIMITED; THE UNIVERSITY OF TOKYO; TSURUO, TAKASHI; NAKA) 2 de junio de 2005 (2005-06-02) resumen páginas 1-9 ----	1-29, 33-39
Y	WO 2005/047534 A (BAYER HEALTHCARE AG; WIRTZ, RALPH; MUNNES, MARC) 26 de mayo de 2005 (2005-05-26) reivindicaciones 1-5; resumen; página 15, líneas 17-18; página 47, líneas 6-35 ----	1-29, 33-39
Y	US 2004/248151 A1 (BACUS SARAH S Y COL) 9 de diciembre de 2004 (2004-12-09) resumen párrafos [0014]-[0063] ---- ---/---	1-29, 33-39

REPORTE DE BUSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud Internacional No.
 PCT/EP2006/004950

C. (Continuación) DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES

Categoría °	Citación de documento, con indicación, donde sea apropiado, de los textos relevantes	Relevante a la reivindicación No.
Y	US 2003/225528 A1 (BAKER JOFFRE B Y COL) 4 de diciembre de 2003 (2003-12-04) parágrafo [0123]	1-29, 33-39
Y	----- WO 2005/011607 A (SMITHKLINE BEECHAM CORPORATION; SPECTOR, NEIL, LEE; XIA, WENLE) 10 de febrero 2005 (2005-02-10) documento completo	1-29 33-39
Y	----- BILLINGS STEVEN D Y COL: " Sobreexpresión de Anfirregulina resulta en el rápido crecimiento de tumores queratinocíticos: un modelo de xenotransplante in vivo de queratoacantoma" AMERICAN JOURNAL OF PATHOLOGY, DIC 2003, vol. 163, no. 6, Diciembre 2003 (2003-12), páginas 2451-2458, XP002362803 ISSN: 0002-9440 documento completo	1-29, 33-39
Y	----- PANICO L Y COL: "Detección inmunohistoquímica diferencial del factor de crecimiento transformante-alfa, anfirregulina y cripto en tejido humano de seno normal y maligno." INTERNATIONAL JOURNAL OF CANCER, NEW YORK, NY, US, vol. 65, 1996, páginas 51-56, XP002969702 ISSN: 0020-7136 documento completo	1-29, 33-39
A	--- HYNES NANCY E Y COL: "Receptores ERBB y cáncer : la complejidad de los inhibidores diana" NATURE REVIEWS. CANCER. MAYO 2005, vol. 5, no. 5, Mayo 2005 (2005-05), páginas 341-354, XP002362804 ISSN: 1474-175X documento completo	
A	----- SRIDHAR S S Y COL: "Inhibidores de los receptors de factores de crecimiento epidermal : una revisión de investigaciones clínicas con un enfoque en cáncer de pulmón de células no pequeñas." LANCET ONCOLOGY LANCET PUBLISHING GROUP, LONDRES, GB vol. 4, no. 7, Julio 2003 (2003-07), páginas 397-406, XP004809825 ISSN: 1470-2045 documento completo	
	---/---	

11

REPORTE DE BUSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud Internacional No.
PCT/EP2006/004950

C. (Continuación) DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES

Categoría °	Citación de documento, con indicación, donde sea apropiado, de los textos relevantes	Relevante a la reivindicación No.
A	CIARDIELLO F Y COL: " Receptor del factor de crecimiento epidermal (EGFR) como un diana en la terapia del cáncer: entendimiento del rol de la expresión del receptor y otros determinantes moleculares que pueden influenciar la respuesta a medicamentos anti-EGFR" EUROPEAN JOURNAL OF CANCER, PERGAMON PRESS, OXFORD, GB, vol. 39, no. 10, Julio 2003 (2003-07), páginas 1348-1354, XP004431787 ISSN: 0959-8049 documento completo" -----	
A	AGUS DAVID B Y COL: " Estudio clínico fase I de pertuzumab: un nuevo inhibidor de la dimerización de HER, en pacientes con cáncer avanzado." JOURNAL OF CLINICAL ONCOLOGY: OFFICIAL JOURNAL OF THE AMERICAN SOCIETY OF CLINICAL ONCOLOGY, 10 Abril 2005, vol. 23, no. 11, 10 de Abril 2005 (2005-04-10), páginas 2534-2543, XP008058275 ISSN: 0732-183X documento completo ---	
A	ALTUNDAG K Y COL: "TERAPIA DIRIGIDA BASADA EN ANTICUERPOS MONOCLONALES EN CÁNCER DE SENO." CURRENT MEDICINAL CHEMISTRY. ANTI-CANCER AGENTS, BENTHAM SCIENCE PUBLISHERS, HILVERSUM, NL, vol. 5, no. 2, Marzo 2005 (2005-03), páginas 99-106, XP009058620 ISSN: 1568-0118 documento completo ----- t t	

REPORTE DE BUSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional No.
 PCT/EP2006/004950

Casilla II Observaciones donde ciertas reivindicaciones fueron inescrutables (Continuación del Item 2 de la primera hoja)

Este reporte de búsqueda internacional no ha sido establecido respecto a ciertas reivindicaciones bajo el Artículo 17(2)(a) por las siguientes razones:

- ☒ Reivindicaciones Nos.: 30-32
 porque se relacionan con un asunto que no es necesario que esta Autoridad busque, a saber:

 Aunque la reivindicación 3 está dirigida a un método de tratamiento del cuerpo humano/animal, la búsqueda ha sido llevada a cabo y basada en los efectos alegados del compuesto/composición.
- ☒ Reivindicaciones Nos.: 30-32

 porque se relacionan con partes de la solicitud internacional que no cumplen con los requisitos prescritos hasta tal grado que no se puede llevar a cabo una búsqueda internacional significativa, específicamente:
 ver INFORMACIÓN ADICIONAL hoja PCT/ISA/210
- ☐ Reivindicaciones No.:
 porque son reivindicaciones dependientes y no están diseñadas de acuerdo con la segunda y tercera oración de la Regla 6.4(a).

Casilla No. III Observaciones donde falta unidad de invención (Continuación del Item 3 de la primera hoja)

Esta Autoridad de Búsqueda Internacional encontró invenciones múltiples en esta solicitud internacional, así:

ver hoja adicional

- ☒ Puesto que todos los derechos de búsqueda adicionales requeridos fueron pagados oportunamente por el solicitante, este informe de búsqueda internacional cubre todas las reivindicaciones investigables.
- ☐ Puesto que todas las reivindicaciones investigables pudieron investigarse sin esfuerzo que justifique derechos adicionales, esta Autoridad no solicitó pago de derechos adicionales.
- ☐ Puesto que sólo algunos de los derechos de búsqueda adicionales fueron pagados oportunamente por el solicitante, este informe de búsqueda internacional cubre únicamente aquellas reivindicaciones para las cuales se pagaron derechos, específicamente las reivindicaciones Nos.:
- ☐ El solicitante no pagó oportunamente los derechos de búsqueda adicionales requeridos. Por consiguiente, este informe de búsqueda internacional se restringe a la primera invención mencionada en las reivindicaciones; está cubierto por las reivindicaciones Nos.:

Comentario sobre Protesta ☐ Los derechos de búsqueda adicionales estuvieron acompañados por la protesta del solicitante.

☒ El pago de los derechos de búsqueda adicionales no estuvo acompañado por una protesta.

INFORMACIÓN ADICIONAL QUE CONTINUA DE PCT/ISA/ 210

Continuación de la Casilla Box II.1

Aunque la reivindicación 3 está dirigida a un método de tratamiento del cuerpo humano/animal, se ha llevado a cabo la búsqueda y con base en los supuestos efectos del compuesto/composición.

Continuación de la Casilla Box II.2

Reivindicaciones Nos.: 30-32

Las presentes reivindicaciones 30-32 comprenden compuestos definidos únicamente por su función deseada, contrario a los requerimientos de claridad del Artículo 6 PCT porque el tipo de definición del resultado que pretende ser logrado no permite el alcance de la reivindicación que será determinada. El hecho de que un compuesto pueda ser protegido no supera esta objeción, puesto que la persona versada no hubiese tenido conocimiento con anterioridad en cuanto a si cayese dentro del alcance reivindicado. Se requeriría experimentación indebida para proteger los compuestos al azar. El no cumplimiento de las disposiciones esenciales es hasta tal punto que ninguna búsqueda significativa de las reivindicaciones 30-32 podría llevarse a cabo (Artículo 17(2) PCT).

Se atrae la atención del solicitante al hecho de que las reivindicaciones relacionadas con invenciones respecto de las cuales no se ha establecido ningún reporte de búsqueda internacional no tienen que ser el objeto de un examen preliminar internacional (Regla 66.1(e) PCT). Se le notifica al solicitante que la política de la EPO al actuar como Autoridad de Examen Preliminar Internacional normalmente es no llevar a cabo un examen preliminar sobre materia que no se ha buscado. Este es el caso prescindiendo de si las reivindicaciones se han modificado después del recibo del reporte de búsqueda o durante un procedimiento del Capítulo II. Si la solicitud procede a la fase regional ante la EPO, se le recuerda al solicitante que puede llevarse a cabo una búsqueda durante el examen ante la EPO (ver Lineamiento C-VI, 8.5 de la EPO), si los problemas que llevaron a la declaración del Artículo 17(2) se superan.

INFORMACIÓN ADICIONAL QUE CONTINUA DE PCT/ISA/ 210

Esta Autoridad de Búsqueda Internacional encontró múltiples (grupos de) invenciones en esta solicitud internacional, así:

1. reivindicaciones: 1-29 y 33-39, todas parcialmente

Métodos para predecir la respuesta de un paciente al tratamiento con inhibidores de dimerización HER que comprende evaluar el gen EGF, o una combinación de genes seleccionados de EGF, TGF-alfa y HER2 que comprenden el gen EGF, o una combinación de genes que comprenden AREG y EGF. Kit que comprende sondas para templar polinucleótidos del marcador EGF. Métodos para tamizar composiciones que inhiben la progresión de enfermedad o agentes candidatos derivados con base en niveles de expresión de dichos genes marcadores. 29

2. reivindicaciones: 1-29 y 33-39, todas parcialmente

Métodos para predecir la respuesta de un paciente al tratamiento con inhibidores de dimerización HER que comprende evaluar el gen TGF-alfa, o una combinación de genes seleccionados de EGF, TGF-alfa y HER2 que comprenden el gen TGF-alfa, o una combinación de genes que comprenden AREG y TGF-alfa. Kit que comprende sondas para templar polinucleótidos del marcador TGF-alfa. Métodos para tamizar composiciones que inhiben la progresión de enfermedad o agentes candidatos derivados con base en niveles de expresión de dichos genes marcadores.

3. reivindicaciones: 1-29 y 33-39, todas parcialmente

Métodos para predecir la respuesta de un paciente al tratamiento con inhibidores de dimerización HER que comprende evaluar el gen HER2, o una combinación de genes seleccionados de EGF, TGF-alfa y HER2 que comprenden el gen HER2, o una combinación de genes que comprenden AREG y HER2. Kit que comprende sondas para templar polinucleótidos del marcador HER2. Métodos para tamizar composiciones que inhiben la progresión de enfermedad o agentes candidatos derivados con base en niveles de expresión de dichos genes marcadores.

4. reivindicaciones: 24-29, 33 y 34, todas parcialmente

Kit que comprende sondas para templar polinucleótidos del marcador AREG. Métodos para tamizar composiciones que inhiben la progresión de enfermedad o agentes candidatos derivados con base en niveles de expresión de dichos genes marcadores.

REPORTE DE BUSQUEDA INTERNACIONAL
información sobre miembros familias de patentes

Solicitud Internacional No.
PCT/EP2006/004950

Documento de patente citado en el reporte de búsqueda	Fecha de publicación	Miembro(s) de la familia de patentes	Fecha de publicación
US 2004106161	A1	03-06-2004	NINGUNA
US 2004013667	A1	22-01-2004	NINGUNA
WO 2004005544	A	15-01-2004	AU 2003250879 A1 23-01-2004 BR 0312405 A 26-04-2005 CA 2493860 A1 15-01-2004 CN 1688715 A 26-10-2005 EP 1521847 A2 13-04-2005 JP 2005531321 T 20-10-2005 US 2006008804 A1 12-01-2006
US 2004157255	A1	12-08-2004	NINGUNA
WO 2004091384	A	28-10-2004	AU 2004225439 A1 14-10-2004 AU 2004229348 A1 28-10-2004 AU 2004230700 A1 28-10-2004 BR PI0408928 A 12-09-2006 BR PI0408950 A 28-03-2006 BR PI0408961 A 31-10-2006 CA 2521077 A1 28-10-2004 CA 2521082 A1 28-10-2004 CA 2521106 A1 14-10-2004 EP 1613732 A2 11-01-2006 EP 1613205 A2 11-01-2006 EP 1613961 A2 11-01-2006 JP 2006523314 T 12-10-2006 JP 2006521821 T 28-09-2006 WO 2004092353 A2 28-10-2004 WO 2004087887 A2 14-10-2004
WO 2005049829	A	02-06-2005	AU 2004291709 A1 02-06-2005 BR PI0410634 A 13-06-2006 CA 2527680 A1 02-06-2005 EP 1633870 A1 15-03-2006 JP 2006526420 T 24-11-2006 KR 20060002012 A 06-01-2006 MX PA05012939 A 17-05-2006 US 2006252056 A1 09-11-2006
WO 2005047534	A	26-05-2005	NINGUNA
US 2004248151	A1	09-12-2004	NINGUNA
US 2003225528	A1	04-12-2003	NINGUNA
WO 2005011607	A	10-02-2005	EP 1653986 A2 10-05-2006

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2006/004950

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. C12Q1/68 G01N33/574

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)

C12Q G01N

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 practical, search terms used)

EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, Sequence Search, WPI Data, PAJ

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2004/106161 A1 (BOSSENMAIER BIRGIT ET AL) 3 June 2004 (2004-06-03) Abstract; paragraphs 28-29, 79-83; Examples 1-7; claims 1-88.	1-29, 33-39
X	"In vivo activity of recombinant humanized monoclonal antibody 2C4 in xenografts is independent of tumor type and degree of HER2 overexpression" EUROPEAN JOURNAL OF CANCER, PERGAMON PRESS, OXFORD, GB, vol. 38, November 2002 (2002-11), page S149, XP004403941 ISSN: 0959-8049 abstract	1-29, 33-39

☒ 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 document but 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

26 January 2007

Date of mailing of the International search report

02/02/2007

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Aguilera, Miguel

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2006/004950

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2004/013667 A1 (KELSEY STEPHEN M ET AL) 22 January 2004 (2004-01-22) example 11	1-29, 33-39
X	WILLEMS AMINA ET AL: "Antibody therapy for breast cancer." ANTICANCER RESEARCH. 2005 MAY-JUN, vol. 25, no. 3A, May 2005 (2005-05), pages 1483-1489, XP009057911 ISSN: 0250-7005 the whole document	1-29, 33-39
X	KÖSTLER WOLFGANG J ET AL: "Monitoring of serum Her-2/neu predicts response and progression-free survival to trastuzumab-based treatment in patients with metastatic breast cancer." CLINICAL CANCER RESEARCH : AN OFFICIAL JOURNAL OF THE AMERICAN ASSOCIATION FOR CANCER RESEARCH. 1 MAR 2004, vol. 10, no. 5, 1 March 2004 (2004-03-01), pages 1618-1624, XP002378020 ISSN: 1078-0432 the whole document	1-29, 33-39
X	MENARD SYLVIE ET AL: "Biologic and therapeutic role of HER2 in cancer." ONCOGENE, vol. 22, no. 42, 29 September 2003 (2003-09-29), pages 6570-6578, XP002378021 ISSN: 0950-9232 the whole document	1-29, 33-39
X	BELL G I ET AL: "HUMAN EPIDERMAL GROWTH FACTOR PRECURSOR: CDNA SEQUENCE EXPRESSION IN VITRO AND GENE ORGANIZATION" NUCLEIC ACIDS RESEARCH, OXFORD UNIVERSITY PRESS, SURREY, GB, vol. 14, no. 21, 1986, pages 8427-8446, XP000829511 ISSN: 0305-1048 the whole document	25
X	DERYNCK R ET AL: "HUMAN TRANSFORMING GROWTH FACTOR-ALPHA: PRECURSOR STRUCTURE AND EXPRESSION IN E. COLI" CELL, MIT PRESS, CAMBRIDGE, MA,, US, vol. 38, 1 August 1984 (1984-08-01), pages 287-297, XP000650165 ISSN: 0092-8674 Materials and Methods section	25

-/--

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2006/004950

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	COUSSENS L ET AL: "TYROSINE KINASE RECEPTOR WITH EXTENSIVE HOMOLOGY TO EGF RECEPTOR SHARES CHROMOSOMAL LOCATION WITH NEU ONCOGENE" SCIENCE, AMERICAN ASSOCIATION FOR THE ADVANCEMENT OF SCIENCE, US, vol. 230, no. 4730, 1985, pages 1132-1139, XP009041156 ISSN: 0036-8075 Materials and Methods section	25
X	SHOYAB M ET AL: "STRUCTURE AND FUNCTION OF HUMAN AMPHIREGULIN: A MEMBER OF THE EPIDERMAL GROWTH FACTOR FAMILY" SCIENCE, AMERICAN ASSOCIATION FOR THE ADVANCEMENT OF SCIENCE,, US, vol. 243, no. 4894, 24 February 1989 (1989-02-24), pages 1074-1076, XP000574073 ISSN: 0036-8075 Materials and Methods section	25
X	WO 2004/005544 A (NOVARTIS AG; NOVARTIS PHARMA GMBH; CHIBOUT, SALAH-DINE; GRENET, OLIVIE) 15 January 2004 (2004-01-15) claim 19	26-29
Y	US 2004/157255 A1 (AGUS DAVID ET AL) 12 August 2004 (2004-08-12) Abstract, paragraphs 11 and 46, and claims 1 and 11	1-29, 33-39
Y	WO 2004/091384 A (ACLARA BIOSCIENCES, INC; CHAN-HUI, PO-YING; SALIMI-MOOSAVI, HOSSEIN; S) 28 October 2004 (2004-10-28) claim 6; page 8, lines 29-31; Table II, page 19	1-29, 33-39
Y	WO 2005/049829 A (ASTRAZENECA UK LIMITED; THE UNIVERSITY OF TOKYO; TSURUO, TAKASHI; NAKA) 2 June 2005 (2005-06-02) abstract pages 1-9	1-29, 33-39
Y	WO 2005/047534 A (BAYER HEALTHCARE AG; WIRTZ, RALPH; MUNNES, MARC) 26 May 2005 (2005-05-26) claims 1-5; Abstract; page 15, lines 17-18; page 47, lines 6-35	1-29, 33-39
Y	US 2004/248151 A1 (BACUS SARAH S ET AL) 9 December 2004 (2004-12-09) abstract paragraphs [0014] - [0063]	1-29, 33-39
	-/--	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2006/004950

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US 2003/225528 A1 (BAKER JOFFRE B ET AL) 4 December 2003 (2003-12-04) paragraph [0123] -----	1-29, 33-39
Y	WO 2005/011607 A (SMITHKLINE BEECHAM CORPORATION; SPECTOR, NEIL, LEE; XIA, WENLE) 10 February 2005 (2005-02-10) the whole document -----	1-29, 33-39
Y	BILLINGS STEVEN D ET AL: "Amphiregulin overexpression results in rapidly growing keratinocytic tumors: an in vivo xenograft model of keratoacanthoma." AMERICAN JOURNAL OF PATHOLOGY. DEC 2003, vol. 163, no. 6, December 2003 (2003-12), pages 2451-2458, XP002362803 ISSN: 0002-9440 the whole document -----	1-29, 33-39
Y	PANICO L ET AL: "Differential immunohistochemical detection of transforming growth factor alpha, amphiregulin and cripto in human normal and malignant breast tissues" INTERNATIONAL JOURNAL OF CANCER, NEW YORK, NY, US, vol. 65, 1996, pages 51-56, XP002969702 ISSN: 0020-7136 the whole document -----	1-29, 33-39
A	HYNES NANCY E ET AL: "ERBB receptors and cancer: the complexity of targeted inhibitors." NATURE REVIEWS. CANCER. MAY 2005, vol. 5, no. 5, May 2005 (2005-05), pages 341-354, XP002362804 ISSN: 1474-175X the whole document -----	
A	SRIDHAR S S ET AL: "Inhibitors of epidermal-growth-factor receptors: a review of clinical research with a focus on non-small-cell lung cancer" LANCET ONCOLOGY, LANCET PUBLISHING GROUP, LONDON, GB, vol. 4, no. 7, July 2003 (2003-07), pages 397-406, XP004809825 ISSN: 1470-2045 the whole document -----	
	-/--	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2006/004950

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CIARDIELLO F ET AL: "Epidermal growth factor receptor (EGFR) as a target in cancer therapy: understanding the role of receptor expression and other molecular determinants that could influence the response to anti-EGFR drugs" EUROPEAN JOURNAL OF CANCER, PERGAMON PRESS, OXFORD, GB, vol. 39, no. 10, July 2003 (2003-07), pages 1348-1354, XP004431787 ISSN: 0959-8049 the whole document	
A	AGUS DAVID B ET AL: "Phase I clinical study of pertuzumab, a novel HER dimerization inhibitor, in patients with advanced cancer." JOURNAL OF CLINICAL ONCOLOGY : OFFICIAL JOURNAL OF THE AMERICAN SOCIETY OF CLINICAL ONCOLOGY. 10 APR 2005, vol. 23, no. 11, 10 April 2005 (2005-04-10), pages 2534-2543, XP008058275 ISSN: 0732-183X the whole document	
A	ALTUNDAG K ET AL: "MONOCLONAL ANTIBODY-BASED TARGETED THERAPY IN BREAST CANCER" CURRENT MEDICINAL CHEMISTRY. ANTI-CANCER AGENTS, BENTHAM SCIENCE PUBLISHERS, HILVERSUM, NL, vol. 5, no. 2, March 2005 (2005-03), pages 99-106, XP009058620 ISSN: 1568-0118 the whole document	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/EP2006/004950

Box 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.: 30-32
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Although claim 3 is directed to a method of treatment of the human/animal body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition.
2. ☒ Claims Nos.: 30-32
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:
see FURTHER INFORMATION sheet PCT/ISA/210
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 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:

see additional sheet

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 an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
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.
- ☒ No protest accompanied the payment of additional search fees.

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

Continuation of Box II.1

Although claim 3 is directed to a method of treatment of the human/animal body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition.

Continuation of Box II.2

Claims Nos.: 30-32

Present claims 30-32 encompass compounds defined only by their desired function, contrary to the requirements of clarity of Article 6 PCT, because the result-to-be-achieved type of definition does not allow the scope of the claim to be ascertained. The fact that any compound could be screened does not overcome this objection, as the skilled person would not have knowledge beforehand as to whether it would fall within the scope claimed. Undue experimentation would be required to screen compounds randomly. The non-compliance with the substantive provisions is to such an extent that no meaningful search of claims 30-32 could be carried out at all (Article 17(2) PCT).

The applicant's attention is drawn to the fact that claims relating to inventions in respect of which no international search report has been established need not be the subject of an international preliminary examination (Rule 66.1(e) PCT). The applicant is advised that the EPO policy when acting as an International Preliminary Examining Authority is normally not to carry out a preliminary examination on matter which has not been searched. This is the case irrespective of whether or not the claims are amended following receipt of the search report or during any Chapter II procedure. If the application proceeds into the regional phase before the EPO, the applicant is reminded that a search may be carried out during examination before the EPO (see EPO Guideline C-VI, 8.5), should the problems which led to the Article 17(2) declaration be overcome.

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 1-29 and 33-39, all partially

Methods of predicting the response of a patient to treatment with HER dimerization inhibitors comprising assessing the EGF gene, or a combination of genes selected from EGF, TGF-alpha and HER2 comprising the EGF gene, or a combination of genes comprising AREG and EGF. Kit comprising probes that anneal EGF marker polynucleotides. Methods of screening for compositions inhibiting the progression of disease or deriving candidate agents based on expression levels of said marker genes.

2. claims: 1-29 and 33-39, all partially

Methods of predicting the response of a patient to treatment with HER dimerization inhibitors comprising assessing the TGF-alpha gene, or a combination of genes selected from EGF, TGF-alpha and HER2 comprising the TGF-alpha gene, or a combination of genes comprising AREG and TGF-alpha. Kit comprising probes that anneal TGF-alpha marker polynucleotides. Methods of screening for compositions inhibiting the progression of disease or deriving candidate agents based on expression levels of said marker genes.

3. claims: 1-29 and 33-39, all partially

Methods of predicting the response of a patient to treatment with HER dimerization inhibitors comprising assessing the HER2 gene, or a combination of genes selected from EGF, TGF-alpha and HER2 comprising the HER2 gene, or a combination of genes comprising AREG and HER2. Kit comprising probes that anneal HER2 marker polynucleotides. Methods of screening for compositions inhibiting the progression of disease or deriving candidate agents based on expression levels of said marker genes.

4. claims: 24-29, 33 and 34, all partially

Kit comprising probes that anneal AREG marker polynucleotides. Methods of screening for compositions inhibiting the progression of disease or deriving candidate agents based on expression levels of said marker gene.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2006/004950

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2004106161 A1	03-06-2004	NONE	
US 2004013667 A1	22-01-2004	NONE	
WO 2004005544 A	15-01-2004	AU 2003250879 A1 BR 0312405 A CA 2493860 A1 CN 1688715 A EP 1521847 A2 JP 2005531321 T US 2006008804 A1	23-01-2004 26-04-2005 15-01-2004 26-10-2005 13-04-2005 20-10-2005 12-01-2006
US 2004157255 A1	12-08-2004	NONE	
WO 2004091384 A	28-10-2004	AU 2004225439 A1 AU 2004229348 A1 AU 2004230700 A1 BR PI0408928 A BR PI0408950 A BR PI0408961 A CA 2521077 A1 CA 2521082 A1 CA 2521106 A1 EP 1613732 A2 EP 1613205 A2 EP 1613961 A2 JP 2006523314 T JP 2006521821 T WO 2004092353 A2 WO 2004087887 A2	14-10-2004 28-10-2004 28-10-2004 12-09-2006 28-03-2006 31-10-2006 28-10-2004 28-10-2004 14-10-2004 11-01-2006 11-01-2006 11-01-2006 12-10-2006 28-09-2006 28-10-2004 14-10-2004
WO 2005049829 A	02-06-2005	AU 2004291709 A1 BR PI0410634 A CA 2527680 A1 EP 1633870 A1 JP 2006526420 T KR 20060002012 A MX PA05012939 A US 2006252056 A1	02-06-2005 13-06-2006 02-06-2005 15-03-2006 24-11-2006 06-01-2006 17-05-2006 09-11-2006
WO 2005047534 A	26-05-2005	NONE	
US 2004248151 A1	09-12-2004	NONE	
US 2003225528 A1	04-12-2003	NONE	
WO 2005011607 A	10-02-2005	EP 1653986 A2	10-05-2006

21

27

22

(12) SOLICITUD INTERNACIONAL PUBLICADA SEGÚN EL TRATADO DE COOPERACION DE PATENTES (PCT)

(19) Organización Mundial de Propiedad Intelectual
Oficina Internacional



(43) Fecha de Publicación

22 de Febrero de 2007. (22.02.2007)

PCT

(10) Número de Publicación Internacional

WO 2007/019899 A3

(51) Clasificación Internacional de Patentes⁷:

C12Q 1/68 (2006.01)

G01N 33/574 (2006.01)

(21) Número de Solicitud Internacional: PCT/EP2006/004950

(22) Fecha de Registro Internacional: 24 de Mayo de 2006
(24.05.2006)

(25) Idioma de registro:

Inglés

(26) Idioma de Publicación:

Inglés

(30) Información de Prioridad:

05017663.5 12 de Agosto de 2005 (12.08.2005) EP

(71) Solicitante: (para todos los estados designados excepto Estados Unidos): **F. HOFFMANN-LA ROCHE AG** [CH/CH]; Grenzacherstrasse 124, CH-4070 Basel (CH).

(72) Inventores: e

(75) Inventores/solicitantes (para Estados Unidos únicamente): **MOECKS, Joachim** [DE/DE]; Max-Joseph-Strasse 9, 68167 Mannheim (DE). **STRAUSS, Andreas** [DE/DE]; Falkenstrasse 9, 82377 Penzberg (DE). **ZUGMAIER, Gerhard** [DE/DE]; Sonnenbuehl 31, 70597 Stuttgart (DE).

(74) Agente: **BURGER, Alexander** y col; Roche Diagnostics GmbH, Patent Department (TR-E), Postfach 11 52, 82372 Penzberg (DE).

(81) Estados Designados (a menos que sea indicado de otra forma, para toda clase de protección nacional requerida): 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, KM, KN, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) Estados Designados (a menos que sea indicado de otra forma, para toda clase de protección regional requerida): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasiatica (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM) Europea (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

- **Declaraciones bajo la Regla 4.17:**

- relativo a la calidad de inventor (Regla 4.17 (iv))

Publicado:

- con reporte de búsqueda internacional

-- antes de la expiración del límite de tiempo para modificar las reivindicaciones y ser publicada de nuevo en el caso de recibo de modificaciones.

(88) Fecha de la publicación del Reporte de Búsqueda Internacional

5 de Abril de 2007

Para los códigos de dos letras y otras abreviaturas, refiérase a "Las Notas Guías sobre Códigos y Abreviaturas" que aparecen al comienzo de cada emisión regular de la Gaceta PCT.

(54) Título: MÉTODO PARA LA PREDICCIÓN DE LA RESPUESTA A UN TRATAMIENTO CON UN INHIBIDOR DE LA DIMERIZACIÓN DE HER

(57) Resumen: La invención está relacionada con un método para la predicción de la respuesta a un tratamiento con un inhibidor de la dimerización de HER en un paciente, lo que comprende los pasos de valorar un gen marcador o una combinación de genes marcadores seleccionados de entre el grupo que consiste en el gen marcador del factor de crecimiento epidérmico, del factor de crecimiento transformante alfa y de HER2 o una combinación de genes marcadores que consiste en el gen marcador de la anfi-regulina y un gen marcador seleccionado del gen marcador del factor de crecimiento epidérmico, del factor de crecimiento transformante alfa y de HER2, en una muestra biológica del paciente y la predicción de la respuesta al tratamiento con el inhibidor de la dimerización de HER en el paciente mediante la evaluación de los resultados del primer paso. Se describen usos adicionales y métodos en los que estos marcadores se utilizan.

23

23

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
22 February 2007 (22.02.2007)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2007/019899 A3

- (51) International Patent Classification:
C12Q 1/68 (2006.01) *G01N 33/574* (2006.01)
- (21) International Application Number:
PCT/EP2006/004950
- (22) International Filing Date: 24 May 2006 (24.05.2006)
- (25) Filing Language: English
- (26) Publication Language: English
- (30) Priority Data:
05017663.5 12 August 2005 (12.08.2005) EP
- (71) Applicant (*for all designated States except US*): **F. HOFF-MANN-LA ROCHE AG** [CH/CH]; Grenzacherstrasse 124, CH-4070 Basel (CH).
- (72) Inventors; and
- (75) Inventors/Applicants (*for US only*): **MOECKS, Joachim** [DE/DE]; Max-Joseph-Strasse 9, 68167 Mannheim (DE). **STRAUSS, Andreas** [DE/DE]; Falkenstrasse 9, 82377 Penzberg (DE). **ZUGMAIER, Gerhard** [DE/DE]; Sonnenbuehl 31, 70597 Stuttgart (DE).
- (74) Agents: **BURGER, Alexander** et al.; Roche Diagnostics GmbH, Patent Department (TR-E), Postfach 11 52, 82372 Penzberg (DE).
- (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, KM, KN, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, 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 (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Declaration under Rule 4.17:
— of inventorship (Rule 4.17(iv))

Published:
— with international search report
— before the expiration of the time limit for amending the claims and to be republished in the event of receipt of amendments

(88) Date of publication of the international search report:
5 April 2007

For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.

(54) Title: METHOD FOR PREDICTING THE RESPONSE TO A TREATMENT WITH A HER DIMERIZATION INHIBITOR

(57) Abstract: The invention is related to a method of predicting the response to a treatment with a HER dimerization inhibitor in a patient comprising the steps of assessing a marker gene or a combination of marker genes selected from the group consisting of an epidermal growth factor, a transforming growth factor alpha and a HER2 marker gene or a combination of marker genes comprising an amphiregulin marker gene and a marker gene selected from an epidermal growth factor, a transforming growth factor alpha and a HER2 marker gene in a biological sample from the patient and predicting the response to the treatment with the HER dimerization inhibitor in the patient by evaluating the results of the first step. Further uses and methods wherein these markers are used are disclosed.

WO 2007/019899 A3

29

TRATADO DE COOPERACION DE PATENTES

24

PCT

De la OFICINA INTERNACIONAL

NOTIFICACION DE REGISTRO
DE UN CAMBIO

(Regla 92 bis. 1 del PCT e
Instrucciones Administrativas, Sección 422)

Para:
BURGER, Alexander
Roche Diagnostics GmbH
Departamento de Patentes (TR-E)
Postfach 11 52
82372 Penzberg
ALEMANIA

Fecha de envío por correo (día/mes/año)
29 de Octubre 2007 (29.10.2007)

Archivo de referencia del solicitante o agente
23220 WO-BUR

NOTIFICACION IMPORTANTE

Solicitud Internacional No.
PCT/EP2006/004950

Fecha de registro internacional (día/mes/año)
24 de Mayo de 2006 (24.05.2006)

1. Las siguientes indicaciones aparecieron en el registro en relación con:

☒ el solicitante ☒ el inventor ☐ el agente ☐ el representante común

Nombre y Dirección

STRAUSS, Andreas
Falkenstrasse 9
82377 Penzberg
Alemania

País de Nacionalidad
DE

País de Residencia
DE

No. Teléfono

No. Facsímile

No. Teleimpresora

2. La Oficina Internacional por el presente notifica al solicitante que el siguiente cambio se ha registrado en relación con:

☐ la persona ☐ el nombre ☒ la dirección ☐ la nacionalidad ☐ la residencia

Nombre y Dirección

STRAUSS, Andreas
Ruhe am Bach 5b
82377 Penzberg
Alemania

País de Nacionalidad
DE

País de Residencia
DE

No. Teléfono

No. Facsímile

No. Teleimpresora

3. Otras observaciones, si fuese necesario:

4. Se ha enviado una copia de esta notificación a:

☒ la Oficina que recibe ☒ las Oficinas designadas relacionadas
☐ la Autoridad de Búsqueda Internacional ☐ las Oficinas seleccionadas relacionadas
☐ la Autoridad de Examen Preliminar Internacional ☐ otros:

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Facsimile No. +41 22 338 89 70

Funcionario autorizado

Kirchner Maria

e-mail pt06.pct@wipo.int

Teléfono No. +41 22 338 74 06

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCTNOTIFICATION OF THE RECORDING
OF A CHANGE(PCT Rule 92bis.1 and
Administrative Instructions, Section 422)

To:

BURGER, Alexander
Roche Diagnostics GmbH
Patent Department (TR-E)
Postfach 11 52
82372 Penzberg
ALLEMAGNE

Date of mailing (day/month/year) 29 October 2007 (29.10.2007)	
Applicant's or agent's file reference 23220 WO-BUR	IMPORTANT NOTIFICATION
International application No. PCT/EP2006/004950	International filing date (day/month/year) 24 May 2006 (24.05.2006)

1. The following indications appeared on record concerning:		
☒ the applicant	☒ the inventor	☐ the agent
☐ the common representative		
Name and Address STRAUSS, Andreas Falkenstrasse 9 82377 Penzberg Germany	State of Nationality DE	State of Residence DE
	Telephone No.	
	Facsimile No.	
	Teleprinter No.	
2. The International Bureau hereby notifies the applicant that the following change has been recorded concerning:		
☐ the person	☐ the name	☒ the address
☐ the nationality		
☐ the residence		
Name and Address STRAUSS, Andreas Ruhe am Bach 5b 82377 Penzberg Germany	State of Nationality DE	State of Residence DE
	Telephone No.	
	Facsimile No.	
	Teleprinter No.	
3. Further observations, if necessary:		
4. A copy of this notification has been sent to:		
☒ the receiving Office	☒ the designated Offices concerned	
☐ the International Searching Authority	☐ the elected Offices concerned	
☐ the International Preliminary Examining Authority	☐ other:	

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland	Authorized officer Kirchner Maria
Facsimile No. +41 22 338 89 70	e-mail pt06.pct@wipo.int
Form PCT/IB/306 (October 2005)	Telephone No. +41 22 338 74 06

I/DFQPHDS90

TRATADO DE COOPERACION DE PATENTES

26

PCT

De la OFICINA INTERNACIONAL

NOTIFICACION DE REGISTRO
DE UN CAMBIO

(Regla 92 bis. 1 del PCT e
Instrucciones Administrativas, Sección 422)

Para:
BURGER, Alexander
Roche Diagnostics GmbH
Departamento de Patentes (TR-E)
Postfach 11 52
82372 Penzberg
ALEMANIA

Fecha de envío por correo (día/mes/año)
09 de Noviembre 2007 (09.11.2007)

Archivo de referencia del solicitante o agente 23220 WO-BUR	NOTIFICACION IMPORTANTE
Solicitud Internacional No. PCT/EP2006/004950	Fecha de registro internacional (día/mes/año) 24 de Mayo de 2006 (24.05.2006)

1. Las siguientes indicaciones aparecieron en el registro en relación con:

☒ el solicitante ☒ el inventor ☐ el agente ☐ el representante común

Nombre y Dirección
ZUGMAIER, Gerhard
Sonnenbuehl 31
70597 Stuttgart
Alemania

País de Nacionalidad
DE

País de Residencia
DE

No. Teléfono

No. Facsímile

No. Teleimpresora

2. La Oficina Internacional por el presente notifica al solicitante que el siguiente cambio se ha registrado en relación con:

☐ la persona ☐ el nombre ☒ la dirección ☐ la nacionalidad ☐ la residencia

Nombre y Dirección
ZUGMAIER, Gerhard
Bavariastrasse 9A
80336 Muenchen
Alemania

País de Nacionalidad
DE

País de Residencia
DE

No. Teléfono

No. Facsímile

No. Teleimpresora

3. Otras observaciones, si fuese necesario:

4. Se ha enviado una copia de esta notificación a:

☒ la Oficina que recibe
☐ la Autoridad de Búsqueda Internacional
☐ la Autoridad de Examen Preliminar Internacional

☒ las Oficinas designadas relacionadas
☐ las Oficinas seleccionadas relacionadas
☐ otros:

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland
Facsímile No. +41 22 338 89 70

Funcionario autorizado
Bentobbal Ryad
e-mail pt06.pct@wipo.int
Teléfono No. +41 22 338 74 06

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCT

NOTIFICATION OF THE RECORDING
OF A CHANGE

(PCT Rule 92bis.1 and
Administrative Instructions, Section 422)

To:

BURGER, Alexander
Roche Diagnostics GmbH
Patent Department (TR-E)
Postfach 11 52
82372 Penzberg
ALLEMAGNE

Date of mailing (day/month/year) 09 November 2007 (09.11.2007)	IMPORTANT NOTIFICATION
Applicant's or agent's file reference 23220 WO-BUR	
International application No. PCT/EP2006/004950	
International filing date (day/month/year) 24 May 2006 (24.05.2006)	

1. The following indications appeared on record concerning:

☒ the applicant ☒ the inventor ☐ the agent ☐ the common representative

Name and Address ZUGMAIER, Gerhard Sonnenbuehl 31 70597 Stuttgart Germany	State of Nationality DE	State of Residence DE
	Telephone No.	
	Facsimile No.	
	Teleprinter No.	

2. The International Bureau hereby notifies the applicant that the following change has been recorded concerning:

☐ the person ☐ the name ☒ the address ☐ the nationality ☐ the residence

Name and Address ZUGMAIER, Gerhard Bavariastrasse 9A 80336 Muenchen Germany	State of Nationality DE	State of Residence DE
	Telephone No.	
	Facsimile No.	
	Teleprinter No.	

3. Further observations, if necessary:

4. A copy of this notification has been sent to:

☒ the receiving Office	☒ the designated Offices concerned
☐ the International Searching Authority	☐ the elected Offices concerned
☐ the International Preliminary Examining Authority	☐ other:

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland	Authorized officer Bentobbal Ryad
Facsimile No. +41 22 338 89 70	e-mail pt06.pct@wipo.int
Form PCT/IB/306 (October 2005)	Telephone No. +41 22 338 74 06

TRATADO DE COOPERACION DE PATENTES

De la
AUTORIDAD DE BUSQUEDA INTERNACIONAL

Para:

Ver forma PCT/ISA/220

PCT
OPINION ESCRITA DE LA
AUTORIDAD DE BUSQUEDA
INTERNACIONAL
(PCT Regla 43bis.1)

Fecha de correo (día/mes/año) ver forma PCT/ISA/210 (Segunda hoja)																										
Registro de referencia del solicitante o agente 23220 WO-BUR	PARA FUTURAS ACCIONES Ver párrafo 2 a continuación																									
Solicitud Internacional No. PCT/EP2006/004950	Fecha de registro internacional (día/mes/año) 24.05.2006	Fecha de prioridad (día/mes/año) 12.08.2005																								
Clasificación Internacional de Patentes (IPC) o clasificación nacional e IPC INV. C12Q1/68 G01N33/574																										
Solicitante F.HOFFMANN-LA ROCHE AG																										
1. Esta opinión contiene indicaciones relacionadas con los siguientes ítems: <table><tr><td>☒</td><td>Casilla No. I</td><td>Bases de la opinión</td></tr><tr><td>☐</td><td>Casilla No. II</td><td>Prioridad</td></tr><tr><td>☒</td><td>Casilla No. III</td><td>No establecimiento de opinión respecto a novedad, nivel inventivo y aplicabilidad industrial</td></tr><tr><td>☒</td><td>Casilla No. IV</td><td>Falta de unidad de invención</td></tr><tr><td>☒</td><td>Casilla No. V</td><td>Afirmación razonada de conformidad con la Regla 43bis.1(a)(i) con respecto a novedad, nivel inventivo o aplicabilidad industrial; citas y explicaciones que sustentan dicha afirmación</td></tr><tr><td>☐</td><td>Casilla No. VI</td><td>Ciertos documentos citados</td></tr><tr><td>☐</td><td>Casilla No. VII</td><td>Ciertos defectos en la solicitud internacional</td></tr><tr><td>☒</td><td>Casilla No. VIII</td><td>Ciertas observaciones sobre la solicitud internacional</td></tr></table> 2. ACCIONES FUTURAS Si se hace una demanda para examen preliminar internacional, esta opinión generalmente será considerada como una opinión escrita de la Autoridad Examinadora Preliminar ("IPEA"). Sin embargo, esto no aplica cuando el solicitante escoge una Autoridad diferente a ésta para que sea la IPEA y la IPEA escogida le ha notificado a la Oficina Internacional de conformidad con la Regla 66.1bis(b) que no se considerarán las opiniones escritas de esta Autoridad de Búsqueda Internacional. Si esta opinión es, según se estipula anteriormente, considerada una opinión escrita de la IPEA, se invita al solicitante a presentar ante la IPEA una respuesta escrita junto, cuando sea apropiado, con modificaciones, antes de la fecha de expiración de tres meses desde la fecha de envío por correo de la Forma PCT/ISA/220 o antes de la fecha de expiración de 22 meses desde la fecha de prioridad, la que expire más tarde. Para opciones futuras, ver la Forma PCT/ISA/220. 3. Para detalles adicionales, ver las notas a la Forma PCT/ISA/220.			☒	Casilla No. I	Bases de la opinión	☐	Casilla No. II	Prioridad	☒	Casilla No. III	No establecimiento de opinión respecto a novedad, nivel inventivo y aplicabilidad industrial	☒	Casilla No. IV	Falta de unidad de invención	☒	Casilla No. V	Afirmación razonada de conformidad con la Regla 43bis.1(a)(i) con respecto a novedad, nivel inventivo o aplicabilidad industrial; citas y explicaciones que sustentan dicha afirmación	☐	Casilla No. VI	Ciertos documentos citados	☐	Casilla No. VII	Ciertos defectos en la solicitud internacional	☒	Casilla No. VIII	Ciertas observaciones sobre la solicitud internacional
☒	Casilla No. I	Bases de la opinión																								
☐	Casilla No. II	Prioridad																								
☒	Casilla No. III	No establecimiento de opinión respecto a novedad, nivel inventivo y aplicabilidad industrial																								
☒	Casilla No. IV	Falta de unidad de invención																								
☒	Casilla No. V	Afirmación razonada de conformidad con la Regla 43bis.1(a)(i) con respecto a novedad, nivel inventivo o aplicabilidad industrial; citas y explicaciones que sustentan dicha afirmación																								
☐	Casilla No. VI	Ciertos documentos citados																								
☐	Casilla No. VII	Ciertos defectos en la solicitud internacional																								
☒	Casilla No. VIII	Ciertas observaciones sobre la solicitud internacional																								
Nombre y dirección de correo de la ISA: European Patent Office-P.B. 5818 Patentlaan 2 NL-2280 HV Rijswijk-Pays Bas Tel. +31 70 340-2040 Tx. 31 651 epo nl Fax: +31 70 340-3016	Fecha de finalización de esta opinión Ver forma PCT/ISA/210	Funcionario Autorizado Aguilera, Miguel Teléfono No. +31 70 340-3897																								

29

Casilla No. I Bases de la opinión

1. Respecto al **idioma**, esta opinión se ha establecido con base en:
☒ La solicitud internacional en el idioma en el cual se presentó
☐ Una traducción de la solicitud internacional al _____, que es el lenguaje de una traducción entregada para propósitos de la búsqueda internacional (Reglas 12.3(a) y 23.1(b)).
2. Respecto a cualquier **nucleótido y/o secuencia aminoácida** revelada en la solicitud internacional y necesaria para la invención reivindicada, esta opinión se ha establecido según:
 - a. tipo de material:
☒ un listado de secuencia
☐ tabla(s) relacionada con el listado de secuencia
 - b. formato de material:
☒ en formato escrito
☒ en formato legible por computador
 - c. tiempo de presentación/suministro:
☒ contenido en la solicitud internacional según se registró.
☒ registrada junto con la solicitud internacional en formato legible por computador.
☐ proporcionada subsiguientemente a esta Autoridad para la búsqueda..
3. ☐ Además, en el caso en que más de una versión o copia de un listado de secuencia y/o tabla relacionada con ello se haya registrado o proporcionado, las declaraciones requeridas de que la información en las copias subsiguientes o adicionales es idéntica a aquella en la solicitud según se presentó o no va más allá de la solicitud según se registró, según lo apropiado, fueron suministradas.
4. Comentarios adicionales:

13

Las preguntas de si la invención reivindicada parece ser novedosa, comprender un paso inventivo (ser no obvia) o ser aplicable industrialmente no se han examinado respecto a:

- ☐ toda la solicitud internacional,
☒ reivindicación No. 3 (aplicabilidad industrial) y 30-32

porque:

☒ dicha solicitud internacional, o dichas reivindicación N. 3 (en aplicabilidad industrial) se relacionan con la siguiente materia objeto que no requiere un examen preliminar internacional (*especifique*):

ver hoja separada

☒ la descripción, reivindicaciones o dibujos (*indique elementos particulares a continuación*) o dichas reivindicaciones Nos. 30-32 son tan imprecisas que no pudo formarse una opinión significativa (*especifique*):

ver hoja separada

☒ las reivindicaciones o dichas reivindicaciones Nos. 30-32 están sustentadas tan inadecuadamente por la descripción que no pudo formarse una opinión significativa (*especificar*).

ver hoja separada

☒ no se ha establecido un reporte de búsqueda internacional para la solicitud completa o para dichas reivindicaciones Nos. 30-32

☐ no fue posible formarse una opinión significativa sin la lista de secuencias; el solicitante, dentro del límite de tiempo prescrito, no:

☐ presentó una lista de secuencias en papel cumpliendo con el estándar presentado en el Anexo C de las Instrucciones Administrativas, y dicha lista no estaba disponible a la Autoridad de Búsqueda Internacional en un formato y manera aceptable a ella.

☐ presentó una lista de secuencias en formato electrónico cumpliendo con el estándar presentado en el Anexo C de las Instrucciones Administrativas, y dicha lista no estaba disponible a la Autoridad de Búsqueda Internacional en un formato y manera aceptable a ella.

☐ pagó los derechos de presentación tardía requeridos para la presentación de una lista de secuencias en respuesta a una invitación bajo las Reglas 13ter.1(a) o (b).

☐ no fue posible formarse una opinión significativa sin las tablas relacionadas con la lista de secuencias; el solicitante, dentro del límite de tiempo prescrito, no presentó dichas tablas en formato electrónico cumpliendo con los requerimientos técnicos presentados en el Anexo C-bis de las Instrucciones Administrativas, y dichas tablas no estaban disponibles a la Autoridad de Búsqueda Internacional en un formato y manera aceptable a ella.

☐ las tablas relacionadas con la lista de secuencias nucleótidas y/o amino ácidas, si están en formato electrónico únicamente, no cumplen con los requerimientos técnicos presentados en el Anexo C-bis de las Instrucciones Administrativas.

☐ Ver la Casilla Suplementaria para más detalles

Casilla No. IV Falta de Unidad en la invención

1. ☒ En respuesta a la invitación (Forma PCT/ISA/206) para pagar tasas adicionales, el solicitante en el límite de tiempo solicitado ha:
- ☒ Pagado tasas adicionales
 - ☐ Pagado tasas adicionales bajo protesta y, donde aplique la tasa de protesta
 - ☐ Pagado tasas adicionales bajo protesta, pero la tasa de protesta aplicable no se pagó
 - ☐ Ni pagado tasas adicionales
2. ☐ Esta Autoridad encontró que el requisito de unidad de invención no se cumple y decidió, no invitar al solicitante a pagar tasas adicionales.
3. Esta Autoridad considera que el requisito de unidad de invención de acuerdo con las Reglas 13.1, 13.2 y 13.3 es:
- ☐ Cumplido
 - ☒ No cumplido por las siguientes razones:
ver hoja separada
4. En consecuencia, este reporte ha sido establecido con respecto a las siguientes partes de la solicitud internacional:
- ☐ todas las partes
 - ☒ las partes relacionadas a las reivindicaciones Nos. 1-29, 33-39

Casilla No. V Afirmación razonada bajo la Regla 43bis.1(a)(i) respecto a novedad, nivel inventivo o aplicabilidad industrial; citas y explicaciones que sustentan dicha afirmación

1. Afirmación

Novedad (N)	Si: Reivindicaciones	3-5, 8, 10-24, 26-29 y 33-39
	No: Reivindicaciones	1, 2, 6, 7, 9 y 25
Nivel inventivo (IS)	Si: Reivindicaciones	
	No: Reivindicaciones	1-29, 33-39
Aplicabilidad industrial (IA)	Si: Reivindicaciones	1, 2, 4-29, 33-39
	No: Reivindicaciones	

2. Citaciones y explicaciones
ver hoja separada

32

CASILLA No. VIII Ciertas observaciones sobre la solicitud internacional

Las siguientes observaciones sobre la claridad de las reivindicaciones, la descripción, y los dibujos o sobre la pregunta si las reivindicaciones están satisfactoriamente soportadas por la descripción, son formuladas:

ver hoja separada

33

III. No establecimiento de opinión (Continuación)

La reivindicación 3 está dirigida a un método de tratamiento. Para la evaluación de dicha reivindicación y sus reivindicaciones dependientes sobre la pregunta si son aplicables industrialmente, no existe un criterio unificado en los Estados Contratantes del PCT. La patentabilidad también puede depender de la formulación de las reivindicaciones. La EPO, por ejemplo, no reconoce como industrialmente aplicable la materia objeto de las reivindicaciones para el uso de un compuesto en el tratamiento médico, pero pueden permitir, sin embargo, reivindicaciones a un compuesto conocido para primer uso en tratamiento médico y el uso de dicho compuesto para la fabricación de un medicamento para un nuevo tratamiento médico.

Las reivindicaciones 30-32 presentes abarcan compuestos definidos solamente por su función deseada, contrario a los requerimientos de claridad del Artículo 6 PCT, porque el tipo de definición de resultado-a-alcanzar no permite determinar el alcance de la reivindicación. El hecho que cualquier compuesto puede ser seleccionado no supera esta objeción, porque el experto no tendría conocimiento de antemano en cuanto a si caería dentro del alcance reivindicado. Se requeriría experimentación excesiva para seleccionar compuestos aleatoriamente. El incumplimiento de las provisiones sustantivas es de tal medida que no se podría realizar en absoluto una búsqueda significativa de las reivindicaciones 30-32 (Artículo 17(2) PCT).

IV. Falta de Unidad (Continuación)

- 3.1 Se hace referencia a los siguientes documentos (D) en esta comunicación; la numeración será adoptada en el resto del procedimiento:

- D1: US 2004/106161 A1 (BOSSENMAIER BIRGIT ET AL) Junio 3 de 2004.
- D2: WO 2005/047534 A (BAYER HEALTHCARE AG; WIRTZ, RALPH; MUNNES, MARC) Mayo 26 de 2005
- D3: WO 2004/091384 A (ACLARA BIOSCIENCES, INC; CHAN-HUI, PO-YING; SALIMI-MOOSAVI, HOSSEIN; S) Octubre 28 de 2004
- D4: US 2004/157255 A1 (AGUS DAVID ET AL) Agosto 12 de 2004
- D5: "In vivo activity of recombinant humanized monoclonal antibody 2C4 in xenografts is independent of tumour type and degree of HER2 overexpression" (La actividad del anticuerpo monoclonal humanizado recombinante 2C4 en xenoinjertos es independiente del tipo de tumor y el grado de sobreexpresión de HER2), EUROPEAN JOURNAL OF CANCER, PERGAMON PRESS, OXFORD, GB, vol. 38, Noviembre 2002 (2002-11), página S149,

XP004403941 ISSN: 0959-8049.

- D6: US 2004/013667 A1 (KELSEY STEPHEN M ET AL) Enero 22 de 2004
- D7: WILLEMS AMINA ET AL: "Antibody therapy for breast cancer" (Terapia de anticuerpo para el cáncer de seno). ANTICANCER RESEARCH. MAY-JUN 2005, vol. 25, no. 3A, Mayo 2005 (2005-05), páginas 1483-1489, XP002378019 ISSN: 0250-7005
- D8: KÖSTLER WOLFGANG J ET AL: "Monitoring of serum Her-2/neu predicts response and progression-free survival to trastuzumab-based treatment in patients with metastatic breast cancer" (el monitoreo de Her-2/neu en suero predice la respuesta y supervivencia libre de progresión al tratamiento basado en trastuzumab en pacientes con cáncer de seno metastático) CLINICAL CANCER RESEARCH: AN OFFICIAL JOURNAL OF THE AMERICAN ASSOCIATION FOR CANCER RESEARCH. MAR 1 2004, vol. 10, no. 5, Marzo 1 de 2004 (2004-03-01), páginas 1618-1624, XP002378020 ISSN: 1078-0432
- D9: MENARD SYLVIE ET AL: "Biologic and therapeutic role of HER2 in cancer" (Papel biológico y terapéutico del HER2 en el cáncer). ONCOGENE, vol. 22, no. 42, Septiembre 29 de 2003 (2003-09-29), páginas 6570-6578, XP002378021 ISSN: 0950-9232
- D10: BELL G I ET AL: "HUMAN EPIDERMAL GROWTH FACTOR PRECURSOR: CDNA SEQUENCE EXPRESSION IN VITRO AND GENE ORGANIZATION" (Precursor del Factor de Crecimiento Epidérmico Humano: Expresión de la secuencia de ADNc in Vitro y Organización génica) NUCLEIC ACIDS RESEARCH, OXFORD UNIVERSITY PRESS, SURREY, GB, vol. 14, no. 21, 1986, páginas 8427-8446, XP000829511 ISSN: 0305-1048.
- D11: PANICO L ET AL: "Differential immunohistochemical detection of transforming growth factor alpha, amphiregulin and cripto in human normal and malignant breast tissues" (Detección inmunohistoquímica diferencial del factor alfa de crecimiento de transformación, anfíregulina y cripto en tejidos de seno normales y malignos) INTERNATIONAL JOURNAL OF CANCER, NEW YORK, NY, US, vol. 65, 1996, páginas 51-56, XP002969702 ISSN: 0020-7136
- D12: DERYNCK R ET AL: "HUMAN TRANSFORMING GROWTH FACTOR-ALPHA: PRECURSOR STRUCTURE AND EXPRESSION IN E.COLI" (Factor-alfa de crecimiento de transformación humano: Estructura precursora y expresión en E. coli). CELL, MIT PRESS, CAMBRIDGE, MA, US, vol. 38, Agosto 1 de 1984 (1984-08-01), páginas 287-297, XP000650165 ISSN: 0092-8674
- D13: COUSSENS L ET AL: "TYROSINE KINASE RECEPTOR WITH EXTENSIVE HOMOLOGY TO EGF RECEPTORS SHARES CHROMOSOMAL LOCATION WITH NEU ONCOGENE" (El receptor de tirosina quinasa con homología extensa con los receptores EGF comparte la ubicación cromosómica con el oncogen NEU) SCIENCE, AMERICAN ASSOCIATION FOR THE ADVANCEMENT OF SCIENCE, US, vol. 230, no. 4730, 1985, páginas 1132-1139, XP009041156

ISSN: 0036-8075

D14: SHOYAB M ET AL: "STRUCTURE AND FUNCTION OF HUMAN AMPHIREGULIN: A MEMBER OF THE EPIDERMAL GROWTH FACTOR FAMILY" (Estructura y función de la amfíregulina humana: un miembro de la familia del factor de crecimiento epidérmico). SCIENCE, AMERICAN ASSOCIATION FOR THE ADVANCEMENT OF SCIENCE, US, vol. 243, no. 4894, Febrero 24 de 1989 (1989-02-21), páginas 1074-1076, XP000574073 ISSN: 0036-8075

- 3.2 La concepto común revelado en la solicitud puede considerarse como la provisión de métodos para predecir la respuesta de un paciente al tratamiento con inhibidores de la dimerización de HER que comprenden valorar un gen marcador en una muestra biológica del paciente.

Sin embargo, este concepto no es nuevo en vista de D1 (Resumen; párrafos 28-29, 79-83; Ejemplos 1-7; reivindicaciones 1-88). El tratamiento con anticuerpos 2C4 rhuMab, que inhiben la dimerización de HER2 con otros receptores HER, está revelado como una realización preferida, y los genes marcadores evaluados incluyen HER-1, HER-2, HER-3 Y HER-4. Se puede encontrar revelación similar en D2 (reivindicaciones 1-5; Resumen; página 15, líneas 17-18; página 47, líneas 6-35). El tratamiento con anticuerpos 2C4, que inhiben la dimerización de HER2 con otros receptores HER, está citado como una realización preferida (reivindicación 3). D3 también anticipa el concepto común (reivindicación 6; página 8, líneas 29-31); Tabla II, página 19).

En vista de esta técnica previa, el problema a ser resuelto por la presente invención puede considerarse como la provisión de genes marcadores adicionales y combinaciones de los mismos adecuados para predecir la respuesta de un paciente al tratamiento con inhibidores de la dimerización de HER.

Las soluciones dadas por la presente solicitud son:

Invención 1: Métodos para predecir la respuesta de un paciente al tratamiento con inhibidores de la dimerización de HER que comprende valorar el gen EGF, o una combinación de genes seleccionados de EGF, TGF-alfa y HER2, que comprende el gen EGF, o una combinación de genes que comprende AREG y EGF. Kit que comprende sondas que se aparean con polinucleótidos marcadores de EGF. Métodos para seleccionar composiciones que inhiben la progresión de la enfermedad, o para derivar agentes candidatos basados en los niveles de expresión de dichos genes marcadores.

reivindicaciones 1-29 y 33-39, todas parcialmente

36

Inventi3n 2: M3todos para predecir la respuesta de un paciente al tratamiento con inhibidores de la dimerizaci3n de HER que comprende valorar el gen **TGF-alfa**, o una combinaci3n de genes seleccionados de EGF, TGF-alfa y HER2, que comprende el gen TGF-alfa, o una combinaci3n de genes que comprende AREG y TGF-alfa. Kit que comprende sondas que se aparean con polinucle3tidos marcadores de TGF-alfa. M3todos para seleccionar composiciones que inhiben la progresi3n de la enfermedad, o para derivar agentes candidatos basados en los niveles de expresi3n de dichos genes marcadores.

reivindicaciones 1-29 y 33-39, todas parcialmente.

Inventi3n 3: M3todos para predecir la respuesta de un paciente al tratamiento con inhibidores de la dimerizaci3n de HER que comprende valorar el gen **HER2**, o una combinaci3n de genes seleccionados de EGF, TGF-alfa y HER2, que comprende el gen HER2, o una combinaci3n de genes que comprende AREG y HER2. Kit que comprende sondas que se aparean con polinucle3tidos marcadores de HER2. M3todos para seleccionar composiciones que inhiben la progresi3n de la enfermedad, o para derivar agentes candidatos basados en los niveles de expresi3n de dichos genes marcadores.

reivindicaciones 1-29 y 33-39, todas parcialmente

Inventi3n 4: Kit que comprende sondas que se aparean con polinucle3tidos marcadores de AREG. M3todos para seleccionar composiciones que inhiben la progresi3n de la enfermedad, o para derivar agentes candidatos basados en los niveles de expresi3n de dicho gene marcador.

reivindicaciones 24-29, 33 y 34, todas parcialmente

- 3.3 Como no se puede distinguir otra caracteristica t3cnica que, en vista de la t3cnica previa pudiera considerarse como caracteristica t3cnica especial en el sentido de la Regla 13.2 PCT, la ISA opina que no existe concepto inventivo 3nico que subyace la pluralidad de las invenciones reivindicadas de la presente solicitud en el sentido de la regla 13.1 PCT.

En general, el concepto com3n presente simplemente equivale a aplicar el principio b3sico de farmacogen3mica, p.e., el uso de marcadores gen3ticos para predecir la respuesta de f3rmaco, a una clase particular de f3rmacos, los inhibidores de la dimerizaci3n de HER, cuya relevancia e inter3s cl3nico para el tratamiento del c3ncer es conocido de la t3cnica previa. As3, incluso si los documentos de la t3cnica previa anteriores fueran abandonados, no parece necesaria la habilidad inventiva para formular este concepto com3n.

En consecuencia, existe una falta de unidad y los m3todos y productos reivindicados son invenciones

92

37

diferentes que no pertenecen a un concepto inventivo común.

- 3.4 Todas las cuatro invenciones listadas anteriormente están cubiertas por el presente Reporte De Búsqueda Internacional y Opinión Escrita (reivindicaciones 1-29, y 33-39).

V. Declaración Razonada (Continuación)

2.1 INVENCION 1: EGF

- 2.1.1 D10 revela sondas que se aparean con el gen EGF bajo condiciones severas (ver las secciones de Métodos y Resultados). Desde la fecha de publicación de la secuencia de ácido nucleico de EGF, casi 20 años antes de la fecha de prioridad, se han revelado cientos de fragmentos de ácido nucleico de dicha secuencia adecuados para ser usados como sondas. Por ende, la reivindicación 25 no es nueva.

Por lo tanto, la presente solicitud no satisface el criterio establecido en el Artículo 33(2) PCT porque la materia objeto de la reivindicación 25 no es nueva con respecto a la técnica previa como se definió en las regulaciones (Regla 64(1)-(3) PCT).

- 2.1.2 Se considera que el Documento D1 representa el estado de la técnica más relevante para la reivindicación 1, y revela un método para predecir una respuesta a un tratamiento con inhibidor de la dimerización de HER, rumba 2C4, que comprende el paso de “valorar” un gen marcador HER-2 (Resumen; párrafos 28-29, 79-83; Ejemplos 1-7; reivindicaciones 1-88).

La materia objeto de la reivindicación 1 difiere en que el gen a ser “valorado” es EGF. Ninguna ventaja especial o sorprendente asociada con esta diferencia es obvia con respecto a D1.

Por ende, el problema a ser resuelto por la presente invención puede considerarse como proveer un gen marcador alternativo para predecir la respuesta al tratamiento con inhibidores de la dimerización de HER. La solución propuesta es usar EGF como un gen marcador.

Sin embargo, no puede considerarse que esta solución involucra un nivel inventivo porque no resuelve el problema técnico planteado. El término vago “valorar” comprende múltiples parámetros no relacionados (ver más adelante, objeciones bajo el Artículo 6 PCT), la mayoría de ellos no muestran ser indicativos de la respuesta al tratamiento.

- 2.1.3 La reivindicación dependiente 2 está restringida a valorar el *nivel de expresión* del gen marcador. Este

43

parámetro, sin embargo, tampoco resuelve el problema técnico propuesto, porque abarca niveles de expresión de mARM, que no se ha probado que sean indicativos de la respuesta al tratamiento. El aumento en los niveles de proteína en suero de EGF mostrados en los presentes ejemplos no implican un aumento equivalente en los niveles de mARN de EGF, porque múltiples pasos reguladores pueden distorsionar esta relación: estabilización de mARN, regulación de traslación, modificación post-traslacional de proteína, tráfico y exportación intracelular de proteína, etc.

- 2.1.4 La reivindicación dependiente 9 está restringida a detectar el nivel de expresión de una *proteína* marcadora. En vista de la presente revelación, esta solución no resuelve el problema técnico planteado porque el aumento en los niveles de proteína en suero de EGF mostrados en los ejemplos no implican un aumento equivalente en los niveles de proteína EGF en “una muestra biológica del paciente” en general, la cual incluye muestras de composición tan diversas como orina y fluido espinal (ver página 5 de la descripción).
- 2.1.5 La reivindicación dependiente 16, en cuanto a lo que se refiere a la invención 1, está dirigida a valorar el nivel de expresión de proteína EGF dentro de un cierto rango de concentración en suero sanguíneo. En vista de la presente revelación, esta solución parece resolver el problema técnico planteado y podría considerarse que involucra un nivel inventivo porque no está revelada ni abiertamente sugerida en ningunos de los documentos de la técnica previa en archivo.
- 2.1.6 Las reivindicaciones dependientes 3-8, 10-15 y 17-23 no parecen contener ninguna característica adicional que, en combinación con las características de cualquier reivindicación a la cual se refieren, involucre un nivel inventivo, porque caen bajo al alcance del diseño experimental y optimización de rutina, y el experto incluiría estas características con el fin de resolver el problema planteado sin involucrar un nivel inventivo.
- 2.1.7 El razonamiento anterior aplica *mutatis mutandis* a los usos y métodos de las reivindicaciones 24, 26-29 y 33-39 porque se basan en las mismas características técnicas que el método de la reivindicación 1.

Adicionalmente, se debe notar que los métodos de las reivindicaciones independientes 26, 27, 34 y 35 no están limitados por la característica de susceptibilidad a la terapia inhibidora de la dimerización de HER, sino dirigidos a la identificación y uso médico de compuestos capaces de alterar la expresión de EGF en general. En la ausencia de evidencia experimental, tales reivindicaciones parecen basarse simplemente en especulación y no se puede reconocer habilidad inventiva.

- 2.1.8 Por lo tanto, la presente solicitud no satisface el criterio establecido en el Artículo 33(3) PCT porque la materia objeto de las reivindicaciones 1-29 y 30-39, en lo que se refieren a la invención 1 como se definió anteriormente, no involucra un nivel inventivo (Regla 65(1)(2) PCT).

2.2 INVENCION 2 TGF-alfa

- 2.2.1 D12, publicado en 1984, describe sondas que se aparean con el gen TGF-alfa bajo condiciones severas (ver sección de Métodos). Desde entonces, cientos de documentos revelan sondas similares.

D11 revela anticuerpos que se unen a la proteína TGF-alfa (ver sección de Materiales y Métodos).

Por ende, la reivindicación 25, en lo que se refiere a la invención 2, no es nueva.

Por lo tanto, la presente solicitud no satisface el criterio establecido en el Artículo 33(2) PCT porque la materia objeto de la reivindicación 25 no es nueva con respecto a la técnica previa como se define en las regulaciones (Regla 64(1)-(3) PCT).

- 2.2.2 El razonamiento anterior para la Invención 1 (ítems 2.1.2 – 2.1.7), aplica *mutatis mutandis* a las mismas reivindicaciones en lo que respectan a la Invención 2.

La medida del nivel de expresión de la proteína TGF-alfa dentro de un cierto rango de concentración de suero sanguíneo indicada en la reivindicación 8 no se revela ni se sugiere abiertamente en ninguno de los documentos de la técnica previa en archivo. Por ende, una reivindicación independiente basada en esta característica podría eventualmente considerarse que involucra un nivel inventivo.

- 2.3 Por lo tanto, la presente solicitud no satisface el criterio establecido en el Artículo 33(3) PCT porque la materia objeto de las reivindicaciones 1-29 y 30-39, en lo que se refieren a la invención 2 como se definió anteriormente, no involucra un nivel inventivo (Regla 65(1)(2) PCT).

2.4 INVENCION 3:HER2

- 2.4.1 D13, publicada en 1985, describe sondas que se aparean con el gen HER2 bajo condiciones severas (ver sección de Métodos). Desde entonces, cientos de documentos revelan sondas similares.

D5 revela anticuerpos (2C4) que se unen a la proteína HER-2.

Por lo tanto, la presente solicitud no satisface el criterio establecido en el Artículo 33(2) PCT porque la materia objeto de la reivindicación 25 no es nueva con respecto a la técnica previa como se definió en las regulaciones (Regla 64(1)-(3) PCT).

2.4.2 El documento D1 revela un método para predecir la respuesta a un tratamiento con inhibidor de la dimerización de HER, rumba 2C4, que comprende el paso de valorar el nivel de expresión de un gen marcador HER2 (Resumen; párrafos 28-29, 79-83; Ejemplos 1-7; reivindicaciones 1-88). Por lo tanto, los métodos de las reivindicaciones 1, 2, 6, 7 y 9 no son nuevas (Artículo 33(2) PCT).

2.4.3 El razonamiento anterior para la Invención 1 (ítems 2.1.2 – 2.1.7), aplica *mutatis mutandis* a las reivindicaciones 8, 18 y 24 en lo que respectan a la Invención 3.

2.4.4 Adicionalmente, D5 revela que, bajo ciertas circunstancias en un modelo de xenoinjerto, los niveles de expresión de HER2 predicen la respuesta al tratamiento con terapia de 2C4: “A dosis menores [...] el modelo de expresión alta de HER2 Calu-3 mostró una respuesta reducida con 30% y 84% de inhibición de crecimiento tumoral a 0.6 mg/kg y 2 mg/kr, respectivamente”.

Igualmente, D6 enseña que los niveles de expresión de HER2 son indicaciones para el tratamiento con anticuerpos 2C4 (ver Ejemplo 11).

En general, era de conocimiento común en el campo a la fecha de prioridad, que los niveles de expresión de HER2 en tumores predicen la respuesta del paciente al tratamiento con anticuerpos anti-HER2 (ver por ejemplo D7, D8 o D9). Aplicando este conocimiento a una nueva clase de anticuerpos terapéuticos anti-HER2, a saber inhibidores de la dimerización de HER, parece ser una elección obvia para el experto.

En vista de esta técnica previa, con se puede considerar que una solución al problema presente basado en los niveles de expresión de HER2 involucra un nivel inventivo.

2.4.5 Por lo tanto, la presente solicitud no satisface el criterio establecido en el Artículo 33(3) PCT porque la materia objeto de las reivindicaciones 1-29 y 30-39, en lo que se refieren a la invención 3 como se definió anteriormente, no involucra un nivel inventivo (Regla 65(1)(2) PCT).

2.5 INVENCION 4: AREG

- 2.5.1 D14, publicada en 1989, describe sondas que se aparean con el gen AREG bajo condiciones severas (ver sección de Métodos). Desde entonces, cientos de documentos revelan sondas similares.

D11 revela anticuerpos que se unen a la proteína AREG (ver sección de Materiales y Métodos).

Por ende, la reivindicación 25, en lo que se refiere a la invención 2, no es nueva.

Por lo tanto, la presente solicitud no satisface el criterio establecido en el Artículo 33(2) PCT porque la materia objeto de la reivindicación 25 no es nueva con respecto a la técnica previa como se define en las regulaciones (Regla 64(1)-(3) PCT).

- 2.5.2 El razonamiento anterior para la Invención 1 (ítems 2.1.7), aplica *mutatis mutandis* a las mismas reivindicaciones en lo que respectan a la Invención 2.

Por lo tanto, la presente solicitud no satisface el criterio establecido en el Artículo 33(3) PCT porque la materia objeto de las reivindicaciones 24-29, 33 y 34, en lo que se refieren a la invención 4 como se definió anteriormente, no involucra un nivel inventivo (Regla 65(1)(2) PCT).

VIII. Ciertas Observaciones (Continuación)

- 1 La expresión "valorar un gen marcador" es ambigua porque no describe de hecho que es lo que va a ser *valorado*, p.e., los parámetros a ser medidos: presencia/ausencia del gen en el genoma del paciente, número de copias cromosómicas, mutaciones, metilación, variaciones de corte y empalme, isoformas, modificaciones de proteína alternativas, etc.

Como se muestra que solamente uno de estos parámetros, a saber concentración de proteína en suero, está asociado con la respuesta al tratamiento con inhibidores de la dimerización de HER, la redacción de la reivindicación no solo no es clara, sino que tampoco está soportada por la descripción y los ejemplos, contrario al Artículo 84 EPC:

- 2 Parece, a partir de la descripción como un todo, que la determinación de la concentración de proteína en suero es una característica técnica esencial de cada una de las invenciones presentes. Sin embargo, esta característica técnica esencial no está presente en ninguna reivindicación independiente. Por estas razones, la reivindicación carece de claridad de acuerdo con el Art. 6 PCT tomado en combinación con la Regla 6.3 (b) PCT (Ver Lineamientos del PCT 5.33).

PATENT COOPERATION TREATY

From the
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

PCT

see form PCT/ISA/220

Roche Diagnostics GmbH Patent Department Penzberg					
ASK	02. Feb. 2007				WN
BK					WJ
BUR	HH	HIL	MI	SR	

WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY
(PCT Rule 43bis.1)

Date of mailing
(day/month/year) see form PCT/ISA/210 (second sheet)

Applicant's or agent's file reference

see form PCT/ISA/220

FOR FURTHER ACTION

See paragraph 2 below

International application No.
PCT/EP2006/004950

International filing date (day/month/year)
24.05.2006

Priority date (day/month/year)
12.08.2005

International Patent Classification (IPC) or both national classification and IPC
INV. C12Q1/68 G01N33/574

Applicant
F. HOFFMANN-LA ROCHE AG

Termin
02.05.07
(02.03.07) vol. v

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 43bis.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

Termin
12.06.07
(02.05.07) vol. v

2. FURTHER ACTION

If a demand for international preliminary examination is made, this opinion will usually 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 66.1bis(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:



European Patent Office - P.B. 5818 Patentlaag 2
NL-2280 HV Rijswijk - Pays Bas
Tel. +31 70 340 - 2040 Tx: 31 651 epo nl
Fax: +31 70 340 - 3016

Date of completion of
this opinion

see form
PCT/ISA/210

Authorized Officer

Aguilera, Miguel

Telephone No. +31 70 340-3897



43
WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

International application No.
PCT/EP2006/004950

Box No. I Basis of the 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 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:

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. 3 (industrial applicability) and 30-32

because:

- ☒ the said international application, or the said claims Nos. 3 (on industrial applicability) relate to the following subject matter which does not require an international search (*specify*):

see separate sheet

- ☒ the description, claims or drawings (*indicate particular elements below*) or said claims Nos. 30-32 are so unclear that no meaningful opinion could be formed (*specify*):

see separate sheet

- ☒ the claims, or said claims Nos. 30-32 are so inadequately supported by the description that no meaningful opinion could be formed (*specify*):

see separate sheet

- ☒ no international search report has been established for the whole application or for said claims Nos. 30-32
- ☐ 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 13ter.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

45
WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

International application No.
PCT/EP2006/004950

Box No. IV Lack of unity of invention

1. ☒ In response to the invitation (Form PCT/ISA/206) to pay additional fees, the applicant has, within the applicable time limit:
- ☒ paid additional fees
 - ☐ paid additional fees under protest and, where applicable, the protest fee
 - ☐ paid additional fees under protest but the applicable protest fee was not paid
 - ☐ not paid additional fees
2. ☐ This Authority found that the requirement of unity of invention is not complied with and chose not to invite the applicant to pay additional fees.
3. This Authority considers that the requirement of unity of invention in accordance with Rule 13.1, 13.2 and 13.3 is
- ☐ complied with
 - ☒ not complied with for the following reasons:
see separate sheet
4. Consequently, this report has been established in respect of the following parts of the international application:
- ☐ all parts.
 - ☒ the parts relating to claims Nos. 1-29, 33-39

Box No. V Reasoned statement under Rule 43bis.1(a)(i) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Yes: Claims	3-5, 8, 10-24, 26-29 and 33-39
	No: Claims	1, 2, 6, 7, 9 and 25
Inventive step (IS)	Yes: Claims	
	No: Claims	1-29, 33-39
Industrial applicability (IA)	Yes: Claims	1, 2, 4-29, 33-39
	No: Claims	

2. Citations and explanations

see separate sheet

46
WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

International application No.
PCT/EP2006/004950

Box No. VIII Certain observations on the international application

The following observations on the clarity of the claims, description, and drawings or on the question whether the claims are fully supported by the description, are made:

see separate sheet

III. Non-establishment of opinion (Continuation)

Claim 3 is directed to a method of treatment. For the assessment of said claim and its dependent claims on the question whether they are industrially applicable, no unified criteria exist in the PCT Contracting States. The patentability can also be dependent upon the formulation of the claims. The EPO, for example, does not recognize as industrially applicable the subject-matter of claims to the use of a compound in medical treatment, but may allow, however, claims to a known compound for first use in medical treatment and the use of such a compound for the manufacture of a medicament for a new medical treatment.

Present claims 30-32 encompass compounds defined only by their desired function, contrary to the requirements of clarity of Article 6 PCT, because the result-to-be-achieved type of definition does not allow the scope of the claim to be ascertained. The fact that any compound could be screened does not overcome this objection, as the skilled person would not have knowledge beforehand as to whether it would fall within the scope claimed. Undue experimentation would be required to screen compounds randomly. The non-compliance with the substantive provisions is to such an extent that no meaningful search of claims 30-32 could be carried out at all (Article 17(2) PCT).

IV. Lack of unity (Continuation)

- 3.1 The following documents (D) are referred to in this communication; the numbering will be adhered to in the rest of the procedure:

D1: US 2004/106161 A1 (BOSSENMAIER BIRGIT ET AL) 3 June 2004

D2: WO 2005/047534 A (BAYER HEALTHCARE AG; WIRTZ, RALPH; MUNNES, MARC) 26 May 2005

D3: WO 2004/091384 A (ACLARA BIOSCIENCES, INC; CHAN-HUI, PO-YING; SALIMI-MOOSAVI, HOSSEIN; S) 28 October 2004

D4: US 2004/157255 A1 (AGUS DAVID ET AL) 12 August 2004

D5: "In vivo activity of recombinant humanized monoclonal antibody 2C4 in xenografts is independent of tumor type and degree of HER2 overexpression" EUROPEAN JOURNAL OF CANCER, PERGAMON PRESS, OXFORD, GB, vol. 38, November 2002 (2002-11), page S149,

WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING
AUTHORITY (SEPARATE SHEET)

International application No.

PCT/EP2006/004950

XP004403941 ISSN: 0959-8049

- D6: US 2004/013667 A1 (KELSEY STEPHEN M ET AL) 22 January 2004
- D7: WILLEMS AMINA ET AL: "Antibody therapy for breast cancer."
ANTICANCER RESEARCH. 2005 MAY-JUN, vol. 25, no. 3A, May 2005
(2005-05), pages 1483-1489, XP002378019 ISSN: 0250-7005
- D8: KÖSTLER WOLFGANG J ET AL: "Monitoring of serum Her-2/neu predicts
response and progression-free survival to trastuzumab-based treatment in
patients with metastatic breast cancer." CLINICAL CANCER RESEARCH :
AN OFFICIAL JOURNAL OF THE AMERICAN ASSOCIATION FOR
CANCER RESEARCH. 1 MAR 2004, vol. 10, no. 5, 1 March 2004 (2004-03-
01), pages 1618-1624, XP002378020 ISSN: 1078-0432
- D9: MENARD SYLVIE ET AL: "Biologic and therapeutic role of HER2 in cancer."
ONCOGENE, vol. 22, no. 42, 29 September 2003 (2003-09-29), pages 6570-
6578, XP002378021 ISSN: 0950-9232
- D10: BELL G I ET AL: "HUMAN EPIDERMAL GROWTH FACTOR
PRECURSOR: CDNA SEQUENCE EXPRESSION IN VITRO AND GENE
ORGANIZATION" NUCLEIC ACIDS RESEARCH, OXFORD UNIVERSITY
PRESS, SURREY, GB, vol. 14, no. 21, 1986, pages 8427-8446,
XP000829511 ISSN: 0305-1048
- D11: PANICO L ET AL: "Differential immunohistochemical detection of
transforming growth factor alpha, amphiregulin and cripto in human normal
and malignant breast tissues" INTERNATIONAL JOURNAL OF CANCER,
NEW YORK, NY, US, vol. 65, 1996, pages 51-56, XP002969702 ISSN:
0020-7136
- D12: DERYNCK R ET AL: "HUMAN TRANSFORMING GROWTH FACTOR-
ALPHA: PRECURSOR STRUCTURE AND EXPRESSION IN E. COLI"
CELL, MIT PRESS, CAMBRIDGE, MA,, US, vol. 38, 1 August 1984 (1984-
08-01), pages 287-297, XP000650165 ISSN: 0092-8674
- D13: COUSSENS L ET AL: "TYROSINE KINASE RECEPTOR WITH
EXTENSIVE HOMOLOGY TO EGF RECEPTOR SHARES
CHROMOSOMAL LOCATION WITH NEU ONCOGENE" SCIENCE,
AMERICAN ASSOCIATION FOR THE ADVANCEMENT OF SCIENCE,
US, vol. 230, no. 4730, 1985, pages 1132-1139, XP009041156 ISSN:

0036-8075

D14: SHOYAB M ET AL: "STRUCTURE AND FUNCTION OF HUMAN AMPHIREGULIN: A MEMBER OF THE EPIDERMAL GROWTH FACTOR FAMILY" SCIENCE, AMERICAN ASSOCIATION FOR THE ADVANCEMENT OF SCIENCE, US, vol. 243, no. 4894, 24 February 1989 (1989-02-24), pages 1074-1076, XP000574073 ISSN: 0036-8075

3.2 The common concept disclosed in the application can be considered as the provision of methods of predicting the response of a patient to treatment with HER dimerization inhibitors comprising assessing a marker gene in a biological sample from the patient.

However, this concept is not new in view of D1 (Abstract; paragraphs 28-29, 79-83; Examples 1-7; claims 1-88). The treatment with rhuMab 2C4 antibodies, which inhibit HER2 dimerization with other HER receptors, is disclosed as a preferred embodiment, and the marker genes assessed include HER-1, HER-2, HER-3 AND HER-4. Similar disclosure can be found in D2 (claims 1-5; Abstract; page 15, lines 17-18; page 47, lines 6-35). The treatment with 2C4 antibodies, which inhibit HER2 dimerization with other HER receptors, is recited as a preferred embodiment (claim 3). Also D3 anticipates the common concept (claim 6; page 8, lines 29-31; Table II, page 19).

In view of this prior art, the problem to be solved by the present invention can be considered as the provision of further marker genes and combinations of them suitable for predicting patient's response to treatment with HER dimerization inhibitors.

The solutions given by the present application are:

Invention 1: Methods of predicting the response of a patient to treatment with HER dimerization inhibitors comprising assessing the **EGF** gene, or a combination of genes selected from EGF, TGF-alpha and HER2 comprising the EGF gene, or a combination of genes comprising AREG and EGF. Kit comprising probes that anneal EGF marker polynucleotides. Methods of screening for compositions inhibiting the progression of disease or deriving candidate agents based on expression levels of said marker genes.

claims 1-29 and 33-39, all partially

Invention 2: Methods of predicting the response of a patient to treatment with HER dimerization inhibitors comprising assessing the **TGF-alpha** gene, or a combination of genes selected from EGF, TGF-alpha and HER2 comprising the TGF-alpha gene, or a combination of genes comprising AREG and TGF-alpha. Kit comprising probes that anneal TGF-alpha marker polynucleotides. Methods of screening for compositions inhibiting the progression of disease or deriving candidate agents based on expression levels of said marker genes.

claims 1-29 and 33-39, all partially

Invention 3: Methods of predicting the response of a patient to treatment with HER dimerization inhibitors comprising assessing the **HER2** gene, or a combination of genes selected from EGF, TGF-alpha and HER2 comprising the HER2 gene, or a combination of genes comprising AREG and HER2. Kit comprising probes that anneal HER2 marker polynucleotides. Methods of screening for compositions inhibiting the progression of disease or deriving candidate agents based on expression levels of said marker genes.

claims 1-29 and 33-39, all partially

Invention 4: Kit comprising probes that anneal **AREG** marker polynucleotides. Methods of screening for compositions inhibiting the progression of disease or deriving candidate agents based on expression levels of said marker gene.

claims 24-29, 33 and 34, all partially

- 3.3 Because no other technical features can be distinguished which, in view of the prior art could be regarded as special technical features in the sense of Rule 13.2 PCT, the ISA is of the opinion that there is no single inventive concept underlying the plurality of claimed inventions of the present application in the sense of rule 13.1 PCT.

In general, the present common concept merely amounts to apply the basic principle of pharmacogenomics, i.e. the use of genetic markers to predict drug response, to a particular class of drugs, the HER dimerization inhibitors, whose relevance and clinical interest for treatment of cancer is known from prior art. Thus, even if the above mentioned prior art documents were neglected, no inventive skill appears necessary to formulate this common concept.

Consequently, there is a lack of unity and the methods and products claimed

are different inventions not belonging to a common inventive concept.

- 3.4 All four inventions listed above are covered by the present International Search Report and Written Opinion (claims 1-29 and 33-39).

V. Reasoned statement (Continuation)

2.1 INVENTION 1: EGF

- 2.1.1 D10 discloses probes that anneal with the EGF gene under stringent conditions (see Methods and Results sections). Since the date of publication of the EGF nucleic acid sequence, almost 20 years before priority date, hundreds of nucleic acid fragments of said sequence suitable to be used as probes have been disclosed. Hence, claim 25 is not new.

Therefore, the present application does not satisfy the criterion set forth in Article 33(2) PCT because the subject-matter of claim 25 is not new in respect of prior art as defined in the regulations (Rule 64(1)-(3) PCT).

- 2.1.2 Document D1 is considered to represent the most relevant state of the art for claim 1 and discloses a method of predicting the response to a treatment with HER dimerization inhibitor, rhuMab 2C4, comprising the step of "assessing" a marker gene HER-2 (Abstract; paragraphs 28-29, 79-83; Examples 1-7; claims 1-88).

The subject-matter of claim 1 differs in that the gene to be "assessed" is EGF. No special or surprising advantage associated with this difference is apparent with regard to D1.

Hence, the problem to be solved by the present invention may be regarded as providing an alternative marker gene for predicting the response to treatment with HER dimerization inhibitors. The proposed solution is to use EGF as a marker gene.

This solution cannot however be considered as involving an inventive step because it does not solve the technical problem posed. The vague term "assessing" comprises multiple unrelated parameters (see below, objections under Article 6 PCT), most of them not shown to be indicative of response to treatment.

- 2.1.3 Dependent claim 2 is restricted to assessing the *level of expression* of the

marker gene. This parameter, however, does not solve either the technical problem posed, because it encompasses mRNA expression levels, which are not proven to be indicative of response to treatment. The increase in EGF serum protein levels shown in the present examples does not imply an equivalent increase in EGF mRNA levels, since multiple regulatory steps can distort this relationship: mRNA stabilization, regulation of translation, protein post-translational modification, protein intracellular trafficking and export, etc.

- 2.1.4 Dependent claim 9 is restricted to detecting the level of expression of a marker *protein*. In view of the present disclosure, this solution does not solve the technical problem posed because the increase in EGF serum protein levels shown in the examples does not imply an equivalent increase in EGF protein levels in "a biological sample from the patient" in general, which includes samples of composition as diverse as urine and spinal fluid (see page 5 of the description).
- 2.1.5 Dependent claim 16, as far as invention 1 is concerned, is directed to assessing the level of expression of EGF protein within a certain blood serum concentration range. In view of the present disclosure, this solution appears to solve the technical problem posed and could be considered to involve an inventive step because it is neither disclosed nor fairly suggested in any of the prior art documents on file.
- 2.1.6 Dependent claims 3-8, 10-15 and 17-23 do not appear to contain any additional features which, in combination with the features of any claim to which they refer, involve an inventive step, because they fall under the scope of routine experimental design and optimization, and the skilled person would include these features in order to solve the problem posed without the involvement of an inventive step.
- 2.1.7 The reasoning above applies *mutatis mutandis* to the uses and methods of claims 24, 26-29 and 33-39 because they rely on the same technical features as the method of claim 1.

Furthermore, it must be noted that the methods of independent claims 26, 27, 34 and 35 are not limited by the feature of susceptibility to HER dimerization inhibitor therapy, but aimed to the identification and medical use of compounds able to alter EGF expression in general. In the absence of experimental evidence, such claims seem to rely merely on speculation and no inventive skill can be acknowledged.

- 2.1.8 Therefore, the present application does not satisfy the criterion set forth in Article 33(3) PCT because the subject-matter of claims 1-29 and 30-39, as far as they regard to Invention 1 as defined above, does not involve an inventive step (Rule 65(1)(2) PCT).

2.2 INVENTION 2: TGF-alpha

- 2.2.1 D12, published in 1984, describes probes that anneal with the TGF-alpha gene under stringent conditions (see Methods section). Since then, hundreds of documents disclose similar probes:

D11 discloses antibodies that bind TGF-alpha protein (see Materials and Methods section).

Hence, claim 25, insofar it regards to invention 2, is not new.

Therefore, the present application does not satisfy the criterion set forth in Article 33(2) PCT because the subject-matter of claim 25 is not new in respect of prior art as defined in the regulations (Rule 64(1)-(3) PCT).

- 2.2.2 The reasoning above for Invention 1 (items 2.1.2 - 2.1.7), applies *mutatis mutandis* to the same claims as far as they regard to Invention 2.

The measurement of the level of expression of TGF-alpha protein within a certain blood serum concentration range indicated in claim 8 is neither disclosed nor fairly suggested in any of the prior art documents on file. Hence, an independent claim based on this feature could eventually be considered to involve an inventive step.

- 2.3 Therefore, the present application does not satisfy the criterion set forth in Article 33(3) PCT because the subject-matter of claims 1-29 and 30-39, as far as they regard to Invention 2 as defined above, does not involve an inventive step (Rule 65(1)(2) PCT).

2.4 INVENTION 3: HER2

- 2.4.1 D13, published in 1985, describes probes that anneal with the HER2 gene under stringent conditions (see Methods section). Since then, hundreds of documents disclose similar probes.

D5 discloses antibodies (2C4) that bind HER-2 protein.

Therefore, the present application does not satisfy the criterion set forth in Article 33(2) PCT because the subject-matter of claim 25 is not new in respect of prior art as defined in the regulations (Rule 64(1)-(3) PCT).

2.4.2 Document D1 discloses a method of predicting the response to a treatment with HER dimerization inhibitor, rhuMab 2C4, comprising the step of assessing the level of expression of a marker gene HER2 (Abstract; paragraphs 28-29, 79-83; Examples 1-7; claims 1-88). Therefore, the methods of claims 1, 2, 6, 7 and 9 are not new (Article 33(2) PCT).

2.4.3 The reasoning above for Invention 1 (items 2.1.2 - 2.1.7), applies *mutatis mutandis* to claims 8, 18 and 24 as far as they regard to Invention 3.

2.4.4 Furthermore, D5 discloses that, under certain circumstances in a xenograft model, HER2 expression levels are predictive of treatment response to 2C4 therapy: "At lower doses [...] the HER2 high expressor model Calu-3 showed a reduced response with 30% and 84% tumor growth inhibition at 0.6 mg/kg and 2 mg/kg, respectively".

Similarly, D6 teaches that HER2 expression levels are indications for treatment with 2C4 antibodies (see Example 11).

In general, it was common knowledge in the field at the date of priority that HER2 expression levels in tumors are predictive of patients' response to treatment with anti-HER2 antibodies (see for example D7, D8 or D9). Applying this knowledge to a new class of anti-HER2 therapeutic antibodies, namely HER dimerization inhibitors, appears to be an obvious choice for the skilled person.

In view of this prior art, a solution to the present problem based on HER2 expression levels cannot be considered to involve an inventive step.

2.4.5 Therefore, the present application does not satisfy the criterion set forth in Article 33(3) PCT because the subject-matter of claims 1-29 and 30-39, as far as they regard to Invention 3 as defined above, does not involve an inventive step (Rule 65(1)(2) PCT).

2.5 INVENTION 4: AREG

2.5.1 D14, published in 1989, describes probes that anneal with the AREG gene under stringent conditions (see Methods section). Since then, hundreds of documents disclose similar probes.

D11 discloses antibodies that bind AREG protein (see Materials and Methods section).

Hence, claim 25, insofar it regards to invention 2, is not new.

Therefore, the present application does not satisfy the criterion set forth in Article 33(2) PCT because the subject-matter of claim 25 is not new in respect of prior art as defined in the regulations (Rule 64(1)-(3) PCT).

2.5.2 The reasoning above for Invention 1 (item 2.1.7), applies *mutatis mutandis* to the same claims as far as they regard to Invention 2.

Therefore, the present application does not satisfy the criterion set forth in Article 33(3) PCT because the subject-matter of claims 24-29, 33 and 34, as far as they regard to Invention 4 as defined above, does not involve an inventive step (Rule 65(1)(2) PCT).

VIII. Certain Observations (Continuation)

1 The expression "assessing a marker gene" is ambiguous because it does not describe what in fact is to be *assessed*, i.e. the parameter to be measured: presence/absence of the gene in the patient's genome, number of chromosomal copies, mutations, methylation, splicing variants, isoforms, alternative protein modifications, etc.

Since only one of these parameters, namely serum protein concentration, is shown to be associated with the response to treatment with HER dimerization inhibitors, the wording of the claim is not only unclear, but also not supported by the description and examples, contrary to Article 84 EPC.

2 It appears from the description as a whole that the determination of serum protein concentration is an essential technical feature of each one of the present inventions. This essential technical feature is however not present in any independent claim. For these reasons claim lacks clarity according to Art. 6 PCT taken in combination with Rule 6.3 (b) PCT (see PCT Guidelines 5.33).

56

MÉTODO PARA LA PREDICCIÓN DE LA RESPUESTA A UN TRATAMIENTO
CON UN INHIBIDOR DE LA DIMERIZACIÓN DE HER

RESUMEN, OBJETO Y FINALIDAD DE LA INVENCION

La invención está relacionada con un método para la
5 predicción de la respuesta a un tratamiento con un inhibi-
dor de la dimerización de HER en un paciente, lo que com-
prende los pasos de valorar un gen marcador o una combina-
ción de genes marcadores seleccionados de entre el grupo
que consiste en el gen marcador del factor de crecimiento
10 epidérmico, del factor de crecimiento transformante alfa y
de HER2 o una combinación de genes marcadores que consiste
en el gen marcador de la anfiregulina y un gen marcador se-
leccionado del gen marcador del factor de crecimiento epi-
dérmico, del factor de crecimiento transformante alfa y de
15 HER2, en una muestra biológica del paciente y la predicción
de la respuesta al tratamiento con el inhibidor de la dime-
rización de HER en el paciente mediante la evaluación de
los resultados del primer paso. Se describen usos adiciona-
les y métodos en los que estos marcadores se utilizan.

**MÉTODO PARA LA PREDICCIÓN DE LA RESPUESTA A UN TRATAMIENTO
CON UN INHIBIDOR DE LA DIMERIZACIÓN DE HER**

Campo de la invención

La invención está relacionada con un método de predicción de la respuesta a un tratamiento con un inhibidor de la dimerización de HER en un paciente, lo que comprende los pasos de valorar un gen marcador o una combinación de genes marcadores seleccionados de entre el grupo que consiste en un factor de crecimiento epidérmico, un factor de crecimiento transformante alfa y un gen marcador HER2 o una combinación de los genes marcadores que comprende un gen marcador de anfiregulina y un gen marcador seleccionado de entre un factor de crecimiento epidérmico, un factor de crecimiento transformante alfa y un gen marcador HER2, en una muestra biológica del paciente y predecir la respuesta al tratamiento con inhibidor de la dimerización de HER en el paciente mediante la evaluación de los resultados del primer paso. Se describen los usos y métodos adicionales en los que estos marcadores se utilizan.

Antecedentes de la invención

La familia de receptores del factor de crecimiento epidérmico humano (ErbB o HER) comprende cuatro miembros (HER1-4) que, a través de la activación de una cascada de señalización compleja, son importantes mediadores del crecimiento celular, la supervivencia y la diferenciación. Al menos 11 productos génicos diferentes de la superfamilia del factor de crecimiento epidérmico (EGF) se unen a tres de estos receptores, EGFR (también llamado ErbB1 o HER1), HER3 (ErbB3) y HER4 (ErbB4). Aunque no se ha identificado el ligando que se une y activa a HER2 (ErbB2 o neu), la

teoría que prevalece es que HER2 es un coreceptor que actúa en conjunción con otros receptores HER para amplificar y en algunos casos iniciar la señalización receptor-ligando. La dimerización con el mismo tipo de receptor (homodimerización) o con otro miembro de la familia HER (heterodimerización) es esencial para su actividad. HER2 es la pareja de dimerización preferida por otros miembros de la familia HER. El papel de la familia HER en muchos tipos de tumores epiteliales está bien documentado y ha conducido al desarrollo racional de nuevos agentes contra el cáncer dirigidos específicamente a los receptores HER. El anticuerpo monoclonal (MAb) recombinante humanizado anti-HER2 trastuzumab es un estándar en el cuidado de pacientes con cáncer de mama metastásico (MBC) HER2-positivo. La sobreexpresión / amplificación de la proteína / gen HER2, que aparece en el 20-30% de los casos de cáncer de mama, es un prerrequisito para el tratamiento con trastuzumab.

El pertuzumab (OmnitargTM; anteriormente 2C4) es el primero de un nuevo tipo de agentes conocidos como inhibidores de la dimerización de HER (HDI). El pertuzumab se une a HER2 en su dominio de dimerización, inhibiendo así su capacidad de formar complejos diméricos de receptor activo y bloqueando así la cascada de señalización posterior que finalmente resulta en el crecimiento celular y la división. El OmnitargTM es un anticuerpo monoclonal recombinante totalmente humanizado dirigido contra el dominio extracelular de HER2. La unión de OmnitargTM a HER2 en células epiteliales humanas evita que HER2 forme complejos con otros miembros

bros de la familia HER (lo que incluye EGFR, HER3 y HER4) y probablemente también la homodimerización de HER2. Mediante el bloqueo de la formación de complejos, el Omnitarg™ evita los efectos de estimulación del crecimiento y las señales de supervivencia celular activadas por los ligandos de HER1, HER3 y HER4 (por ejemplo EGF, TGFα, anfiregulina, y las heregulinas). Otros nombres del Omnitarg™ son 2C4 o pertuzumab. El Omnitarg™ es un anticuerpo monoclonal recombinante totalmente humanizado basado en las secuencias marco de la IgG1(κ) humana. La estructura del Omnitarg™ consiste en dos cadenas pesadas (449 residuos) y dos cadenas ligeras (214 residuos). En comparación con el Herceptin™, el Omnitarg™ tiene 12 aminoácidos diferentes en la cadena ligera y 29 aminoácidos diferentes en la cadena pesada de la IgG1.

WO 2004/092353 y WO 2004/091384 presentan investigaciones sobre que la formación de heterodímeros de Her2 con otros receptores debería estar ligada a la efectividad o funcionamiento del Omnitarg.

Zabrecky, J. R. et al., J. Biol. Chem. 266 (1991) 1716-1720 describen que la liberación del dominio extracelular de Her2 puede tener implicaciones en la oncogénesis y su detección podría ser útil en el diagnóstico del cáncer. Colomer R. et al., Clin. Cancer Res. 6 (2000) 2356-2362 describe el dominio extracelular de Her2 circulante y la resistencia a la quimioterapia en el cáncer de mama avanzado. El pronóstico y valor predictivo del dominio extracelu-

lar de Her2 se revisa en Hait, W. N. Clin. Cancer Res. 7
(2001) 2601-2604.

Resumen de la Invención

5 Todavía existe la necesidad de proporcionar métodos
adicionales para la determinación de la progresión de la
enfermedad en un paciente con cáncer tratado con un inhibi-
dor de la dimerización de HER.

 Asimismo, en una realización de la invención, se pro-
porciona un método para la predicción de la respuesta a un
10 tratamiento con un inhibidor de la dimerización de HER en
un paciente, lo que comprende los pasos de

 a) valorar en una muestra biológica del paciente
 - un gen marcador o una combinación de genes marcado-
 res seleccionados de entre el grupo que consiste en un
15 gen marcador de factor de crecimiento epidérmico, del
 factor de crecimiento transformante alfa y de HER2 o
 - una combinación de los genes marcadores que compren-
 de un gen marcador de anfiregulina y un gen marcador
 seleccionado de entre un gen marcador del factor de
20 crecimiento epidérmico, del factor de crecimiento
 transformante alfa y de HER2, y

 b) predecir la respuesta al tratamiento con el inhibi-
dor de la dimerización de HER en el paciente mediante la
evaluación de los resultados del paso a).

25 En otra realización de la invención, se utiliza una
sonda que hibrida con un polinucleótido marcador del factor
de crecimiento epidérmico, el factor de crecimiento trans-
formante alfa o de HER2 bajo condiciones severas o un

anticuerpo que se une a la proteína marcadora del factor de crecimiento epidérmico, del factor de crecimiento transformante alfa o de HER2 para predecir la respuesta al tratamiento con un inhibidor de la dimerización de HER en un paciente o una sonda que hibrida con un polinucleótido marcador de la anfiregulina, del factor de crecimiento epidérmico, el factor de crecimiento transformante alfa o de HER2 bajo condiciones severas o un anticuerpo que se une a la proteína marcadora de la anfiregulina, del factor de crecimiento epidérmico, del factor de crecimiento transformante alfa o de HER2, para seleccionar una composición para inhibir la progresión de la enfermedad en un paciente.

En otra realización de la invención, se proporciona un equipo que comprende una sonda que se aparea con el polinucleótido marcador de la anfiregulina, del factor de crecimiento epidérmico, del factor de crecimiento transformante alfa o de HER2, bajo condiciones severas o un anticuerpo que se une a la proteína marcadora de la anfiregulina, del factor de crecimiento epidérmico, del factor de crecimiento transformante alfa o de HER2.

En otra realización de la invención, se proporciona un método para seleccionar una composición para inhibir la progresión de la enfermedad en un paciente, comprendiendo este método:

a) exponer separadamente alícuotas de una muestra biológica de un paciente con cáncer en presencia de una pluralidad de composiciones de prueba;

b) comparar el nivel de expresión de un gen marcador o una combinación de genes marcadores seleccionados de entre el grupo que consiste en el gen marcador de la anfiregulina, del factor de crecimiento epidérmico, del factor de crecimiento transformante alfa y de HER2, en las alícuotas de la muestra biológica en contacto con las composiciones de prueba y el nivel de expresión de un gen marcador o una combinación de genes marcadores seleccionados de entre el grupo que consiste en el gen marcador de la anfiregulina, del factor de crecimiento epidérmico, del factor de crecimiento transformante alfa y de HER2, en una alícuota de la muestra biológica que no se ha puesto en contacto con las composiciones de prueba,

c) seleccionar una de las composiciones de prueba que altera el nivel de expresión del gen marcador o la combinación de genes marcadores en la alícuota que contiene esa composición de prueba en relación con la alícuota que no se ha puesto en contacto con la composición de prueba, en la que la indicación para la selección de la composición de prueba es una diferencia de al menos el 10% entre el nivel de expresión del gen marcador o la combinación de genes marcadores en la alícuota de la muestra biológica puesta en contacto con la composición de prueba y el nivel de expresión del correspondiente gen marcador o combinación de genes marcadores en la alícuota de la muestra biológica que no se ha puesto en contacto con la composición de prueba.

En otra realización de la invención, se proporciona un método para la derivación de un agente candidato, comprendiendo dicho método:

- 5 a) poner en contacto una alícuota de una muestra biológica de un paciente con cáncer con el agente candidato y determinar el nivel de expresión de un gen marcador o una combinación de genes marcadores seleccionados de entre el grupo que consiste en el gen marcador de la anfiregulina, del factor de crecimiento epidérmico, del factor de crecimiento transformante alfa y de HER2 en la alícuota,
- 10 b) determinar el nivel de expresión de un gen marcador correspondiente o de una combinación de genes marcadores correspondientes en una alícuota de la muestra biológica que no se ha puesto en contacto con el agente candidato,
- 15 c) observar el efecto del agente candidato mediante la comparación del nivel de expresión del gen marcador o combinación del genes marcadores en la alícuota de la muestra biológica que se ha puesto en contacto con el agente candidato y el nivel de expresión del gen marcador correspondiente o la combinación de genes marcadores correspondiente
- 20 en la alícuota de la muestra biológica que no se ha puesto en contacto con el agente candidato,
- d) derivar dicho agente a dicho efecto observado, en el que es una indicación de un efecto del agente candidato
- 25 una diferencia de al menos el 10% entre el nivel de expresión del gen marcador o la combinación de genes marcadores en la alícuota de la muestra biológica puesta en contacto con el agente candidato y el nivel de expresión del corres-

pondiente gen marcador o combinación de genes marcadores en la alícuota de la muestra biológica que no se ha puesto en contacto con el agente candidato.

5 En otra realización de la invención, se proporciona un agente candidato derivado mediante el método de acuerdo con la invención o una preparación farmacéutica que comprende un agente de acuerdo con la invención.

10 En otra realización de la invención, se proporciona un agente de acuerdo con la invención para la preparación de una composición para el tratamiento del cáncer.

En otra realización de la invención, se proporciona un método para producir un fármaco que comprende los pasos del método de la invención y

15 i) sintetizar el agente candidato identificado en el paso (c) o un análogo o derivado del mismo en una cantidad suficiente para proporcionar dicho fármaco en una cantidad terapéuticamente efectiva a un sujeto; y / o

20 ii) combinar el fármaco candidato, el agente candidato identificado en el paso (c) o un análogo o derivado del mismo con un transportador farmacéuticamente aceptable.

se utiliza una proteína marcadora o un polinucleótido marcador seleccionado de entre un grupo que consiste en la proteína marcadora o polinucleótido marcador de la anfiregulina, del factor de crecimiento epidérmico, del factor de crecimiento transformante alfa y de HER2 para derivar un
25 agente candidato o para seleccionar una composición para inhibir la progresión de una enfermedad en un paciente.

En otra realización de la invención, se utiliza un inhibidor de la dimerización de HER para la elaboración de un medicamento para tratar un paciente humano con cáncer, que se caracteriza por que dicho tratamiento incluye la valoración en una muestra biológica del paciente de

- 5 - un gen marcador o una combinación de genes marcadores seleccionados de entre el grupo que consiste en un gen marcador de factor de crecimiento epidérmico, del factor de crecimiento transformante alfa y de HER2 o
- 10 - una combinación de los genes marcadores que comprende un gen marcador de anfiregulina y un gen marcador seleccionado de entre un gen marcador del factor de crecimiento epidérmico, del factor de crecimiento transformante alfa y de HER2.

15 Los artículos "un" y "una" se utilizan aquí en referencia a uno o más de uno (es decir a al menos uno) de los objetos gramaticales del artículo. Como ejemplo, "un elemento" significa un elemento o más de un elemento.

 El término "muestra biológica" significa generalmente
20 cualquier muestra biológica obtenida de un individuo, fluido corporal, línea celular, cultivo tisular, u otra fuente. Los fluidos corporales son por ejemplo linfa, suero, plasma, orina, semen, líquido sinovial y líquido espinal. Los métodos para la obtención de biopsias tisulares y los fluidos
25 corporales de mamíferos son bien conocidos en la materia. Si el término "muestra" se utiliza solo, podría también significar que la muestra es una "muestra biológica", es decir los términos se utilizan de forma intercambiable.

El término "respuesta a un tratamiento con un inhibidor de la dimerización de HER" significa que un paciente ha obtenido un beneficio clínico de o como resultado del tratamiento con el inhibidor de la dimerización de HER al mostrar una respuesta completa, una respuesta parcial, estabilización de la enfermedad (sin progresión) o supervivencia sin progresión, mejora en el tiempo de progresión (de la enfermedad), mejora en el tiempo hasta la muerte o tiempo global de supervivencia, como resultado del tratamiento con el inhibidor de la dimerización de HER. Estos son criterios para la determinación de una respuesta a la terapia y estos criterios permiten la comparación de la eficacia con tratamientos alternativos (Slapak y Kufe, Principles of Cancer Therapy, in Harrisons's Principles of Internal Medicine, 13ª edición, eds. Isselbacher et al., McGraw-Hill, Inc. 1994). Por ejemplo, una respuesta completa o remisión completa es la desaparición de toda enfermedad maligna detectable. Una respuesta parcial es por ejemplo una reducción aproximada del 50 por ciento en el producto de los mayores diámetros perpendiculares de una o más lesiones. No debería haber un aumento en el tamaño de ninguna lesión o aparecer nuevas lesiones. Enfermedad en progresión significa un aumento de al menos aproximadamente un 25 por ciento en el producto de los mayores diámetros perpendiculares de una lesión o la aparición de nuevas lesiones. El término "tiempo hasta la progresión de la enfermedad" o "tiempo hasta la progresión del cáncer" es el tiempo hasta la progresión de la enfermedad o muerte (supervivencia sin progresión) o el

tiempo hasta la muerte. El significado de estos términos es auto-explicativo y conocido para el experto en el campo. El término "progresión" del cáncer puede incluir la aparición de recurrencia o metástasis, que se cree es un evento más específico durante la progresión del cáncer. La progresión del cáncer, preferiblemente cáncer de mama, está "inhibida" si la recurrencia o metástasis del cáncer se reduce, ralentiza, retrasa o evita.

Los "nucleótidos" son "nucleósidos" que además incluyen un grupo fosfato covalentemente unido a la porción azúcar del nucleósido. Para aquellos "nucleósidos" que incluyen un azúcar pentofuranosilo, el grupo fosfato puede estar unido tanto a la matriz hidroxilo en 2', 3' o 5' del azúcar. Un "nucleótido" es la "unidad monomérica" de un "oligonucleótido", más generalmente denominado aquí "compuesto oligomérico", o "polinucleótido", más generalmente denominado "compuesto polimérico". Otra expresión general, asimismo, es ácido desoxiribonucleico (DNA) y ácido ribonucleico (RNA). Como se usa aquí, el término "polinucleótido" es sinónimo de "ácido nucleico".

El término "sonda" se refiere a ácidos nucleicos (DNA o RNA) producidos sintéticamente o biológicamente que, por diseño o selección, contienen secuencias nucleotídicas específicas que les permiten hibridar bajo astringencias definidas predeterminadas específicamente (es decir, preferentemente) a "ácidos nucleicos". Una "sonda" puede identificarse como una "sonda de captura" lo que significa que ésta "captura" el ácido nucleico de modo que pueda ser se-

parado de materiales no deseados que puedan dificultar su detección. Una vez se consigue la separación, la detección del "ácido nucleico diana" capturado puede conseguirse utilizando un procedimiento adecuado. Las "sondas de captura" a menudo se encuentran ya unidas a una fase sólida. De acuerdo con la presente invención, el término hibridación bajo "condiciones severas" tiene el mismo significado que en Sambrook et al. (Molecular Cloning, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press (1989), parágrafo 1.101-1.104). Preferiblemente, una "hibridación severa" es adecuada cuando una señal de hibridación aún es detectable tras lavar durante 1 h con 1xSSC y SDS 0.1% a 50°C, preferiblemente a 55°C, más preferiblemente a 62°C, y más preferiblemente a 68°C, y más preferiblemente durante 1 hora con 0,2xSSC y SDS 0.1% a 50°C, preferiblemente a 55°C, más preferiblemente a 62°C, y aun más preferiblemente a 68°C. La composición del tampón SSC se describe en Sambrook et al. (Molecular Cloning, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press (1989)).

Un "polinucleótido transcrito" es un polinucleótido (por ejemplo un RNA, un cDNA, o un análogo de un RNA o cDNA) que es complementario u homólogo con todo o una porción de un RNA maduro producido por transcripción de un gen, como el gen marcador de la invención, y el procesado normal post-transcripcional (por ejemplo corte y empalme), si ocurre, del transcrito. El término "cDNA" es una abreviatura de DNA complementario, la copia de DNA de cadena sencilla o doble de un mRNA. El término "mRNA" es una abre-

viatura del RNA que sirve como molde para la síntesis proteica.

El término "gen marcador" se pretende que incluya un gen que es útil de acuerdo con esta invención para la determinación de la progresión del cáncer en un paciente, particularmente en un paciente con cáncer de mama. Podría llamarse también gen marcador de cáncer, preferiblemente cáncer de mama. El término "polinucleótido marcador" se pretende que incluya un transcrito de nucleótidos (hnRNA o mRNA) codificado por un gen marcador de acuerdo con la invención, o cDNA derivado del transcrito de nucleótidos, o un segmento de dicho transcrito o cDNA.

El término "proteína marcadora" se pretende que incluya una proteína o polipéptido codificado por un gen marcador de acuerdo con la invención, o un polipéptido o fragmento de proteína que comprende dicha proteína marcadora.

El término "producto génico" se pretende que incluya un marcador polinucleotídico y una proteína marcadora codificada por el gen mencionado.

La expresión de un gen marcador difiere "significativamente" del nivel de expresión del gen marcador en una muestra de referencia si el nivel de expresión del gen marcador en una muestra del paciente difiere del nivel en una muestra del sujeto de referencia en una cantidad mayor que el error estándar del ensayo utilizado para valorar la expresión, y preferiblemente es de al menos un 10%, y más preferiblemente un 25%, 50%, 75%, 100%, 125%, 150%, 175%, 200%, 300%, 400%, 500% o 1.000% de esa cantidad. Alternati-

vamente, la expresión del gen marcador en el paciente puede considerarse "significativamente" inferior que el nivel de expresión en un sujeto control si el nivel de expresión en una muestra del paciente es inferior al nivel en una muestra del sujeto control en una cantidad superior al error estándar del ensayo utilizado para valorar la expresión, y preferiblemente es de al menos un 10%, y más preferiblemente un 25%, 50%, 75%, 100%, 125%, 150%, 175%, 200%, 300%, 400%, 500% o 1.000% de esa cantidad.

10 Un polinucleótido marcador o una proteína marcadora "corresponden a" otro polinucleótido marcador o proteína marcadora si está relacionado con éstos, particularmente preferido es que sea idéntico a éstos.

15 El término "nivel de expresión" generalmente se refiere a la cantidad de un polinucleótido o un producto de aminoácidos o proteína en la muestra. "Expresión" generalmente se refiere al proceso por el cual la información codificada por un gen se convierte en las estructuras presentes y operativas en la célula, asimismo de acuerdo con la invención, 20 el término "expresión" de un gen (marcador) incluye la transcripción en un polinucleótido, la traducción en una proteína y además la modificación post-traducciona de la proteína. Los fragmentos del polinucleótido transcrito, la proteína traducida o la proteína modificada post-traducciona 25 pueden también referirse como expresados si se originan por ejemplo de un transcrito generado por corte y empalme alternativo, un transcrito degradado o procesado post-traducciona de la proteína, por ejemplo me-

71

diante proteólisis. Como se usa aquí, los "genes expresados" incluyen aquellos que son transcritos a un polinucleótido como mRNA y luego traducidos a una proteína. Este término puede también incluir los genes expresados que son

5 transcritos a RNA pero no traducidos a una proteína (por ejemplo, RNA de transferencia y ribosomal). Los términos "sobrexpresión" e "infraexpresión" se refieren a una desviación hacia arriba y hacia abajo respectivamente en los niveles de expresión comparado con el nivel de expresión

10 basal en una muestra utilizada como control. La "sobrexpresión" es por lo tanto también "expresión aumentada" e "infraexpresión" es "expresión reducida".

El término "anfiregulina" está relacionado con un gen que codifica una proteína y con la propia proteína que es

15 un miembro de la familia del factor de crecimiento epidérmico. Es un factor de crecimiento autocrino así como un mitógeno para los astrocitos, las células de Schwann, y los fibroblastos. Está relacionado con el factor de crecimiento epidérmico (EGF) y el factor de crecimiento transformante

20 alfa (TGF-alfa). Esta proteína interacciona con el receptor del EGF/TGF-alfa para promover el crecimiento de las células epiteliales normales e inhibir el crecimiento de ciertas líneas celulares de carcinoma agresivo. De acuerdo con la invención, la secuencia de aminoácidos de Her2 es la se-

25 cuencia de aminoácidos de acuerdo con el ID de SEC Núm. 1. De acuerdo con la invención, la secuencia de ácido nucleico del cDNA de la "anfiregulina" es la secuencia de ácido nu-

72

cleico de acuerdo con el ID de SEC Núm. 5 al que se puede acceder en GenBank con el número de acceso NM_001657.

El término "factor de crecimiento transformante alfa" está relacionado con un gen que codifica una proteína y con la propia proteína, que es un miembro de la familia de los factores de crecimiento transformantes (TGFs). Estos son polipéptidos biológicamente activos que confieren de forma reversible el fenotipo transformado a células en cultivo. El "factor de crecimiento transformante alfa" muestra alrededor de un 40% de homología de secuencia con el factor de crecimiento epidérmico y compite con el EGF por la unión al receptor de EGF, estimulando su fosforilación y produciendo una respuesta mitogénica. De acuerdo con la invención, la secuencia de aminoácidos del "factor de crecimiento transformante alfa" es la secuencia de aminoácidos de acuerdo con el ID de SEC Núm. 3. De acuerdo con la invención, la secuencia de ácido nucleico del cDNA del "factor de crecimiento transformante alfa" es la secuencia de ácido nucleico de acuerdo con el ID de SEC Núm. 7 al que se puede acceder en GenBank con el número de acceso NM_003236.

El término "factor de crecimiento epidérmico" está relacionado con un gen que codifica una proteína y con la propia proteína que es un miembro de la familia de los factores de crecimiento. El "factor de crecimiento epidérmico (EGF)" tiene un importante efecto sobre la diferenciación de células específicas in vivo y es un potente factor mitogénico para una variedad de células en cultivo tanto de origen ectodérmico como mesodérmico. Se cree que el precur-

sor del EGF existe como una molécula unida a membrana que es escindida proteolíticamente para generar la hormona peptídica de 53 aminoácidos que estimula que las células se dividan. De acuerdo con la invención, la secuencia de aminoácidos del "factor de crecimiento epidérmico" es la secuencia de aminoácidos de acuerdo con el ID de SEC Núm. 2. De acuerdo con la invención, la secuencia de ácido nucleico del cDNA del "factor de crecimiento epidérmico (EGF)" es la secuencia de ácido nucleico de acuerdo con el ID de SEC Núm. 6 al que se puede acceder en GenBank con el número de acceso NM_001963. El "receptor del factor de crecimiento epidérmico" abreviado como EGFR, una glicoproteína de 170-kD, está formada por un dominio extracelular N-terminal, un dominio transmembrana hidrofóbico, y una región intracelular C-terminal que contiene el dominio quinasas. El mRNA tiene diferentes variantes traducidas a diferentes proteínas receptor. De acuerdo con la invención, la secuencia de aminoácidos del "receptor del factor de crecimiento epidérmico" es la secuencia de aminoácidos de acuerdo con el ID de SEC Núm. 11 (tránsito variante 1; número de acceso de GenBank NM_005228), ID de SEC Núm. 12 (tránsito variante 2; número de acceso de GenBank NM_201282), ID de SEC Núm. 13 (tránsito variante 3; número de acceso de GenBank NM_201283), o ID de SEC Núm. 14 (tránsito variante 4; número de acceso de GenBank NM_201284). El EGFR, codificado por gen erbB1, ha sido implicado con una relación causal en las neoplasias humanas. En particular, se ha observado la expresión aumentada de EGFR en el cáncer de mama, vejiga

urinaria, pulmón, cabeza, cuello y estómago así como en glioblastomas. La dimerización inducida por ligando del EGFR activa el dominio RTK intrínseco (un dominio de homología a Src 1, SH1), lo que resulta en la autofosforilación en seis residuos tirosina específicos del EGFR en la cola catalítica del dominio citoplasmático. Los efectos celulares de la activación del EGFR en una célula cancerosa incluyen la proliferación aumentada, promoción de la motilidad celular, adhesión, invasión, angiogénesis, y aumento de la supervivencia celular mediante la inhibición de la apoptosis. El EGFR activado induce la proliferación de las células tumorales a través de la estimulación de la cascada de la proteína quinasa activada por mitógenos (MAPK).

Los términos "neu humano", "c-erbB-2", "erbB2", "erbB-2", "HER-2/neu", y "HER-2" se utilizan aquí de forma intercambiable. El término "Her2" se relaciona con un gen que codifica una proteína y con la propia proteína, que es un miembro de la familia de receptores tirosina quinasa de la familia de receptores del factor de crecimiento epidérmico (EGF). Esta proteína no tiene un dominio de unión a ligando por sí misma y por lo tanto no puede unir factores de crecimiento. Sin embargo, se une fuertemente a otros miembros de la familia del receptor de EGF unidos a ligando para formar un heterodímero, estabilizando la unión al ligando y aumentando la activación mediada por la quinasa de las vías de señalización posteriores, como las que involucran a la proteína quinasa activada por mitógenos y a la fosfatidilinositol-3 quinasa. Se han descrito variaciones alélicas en

las posiciones aminoacídicas 654 y 655 de la isoforma a (posiciones 624 y 625 de la isoforma b), siendo el preferido el alelo más común, Ile654/Ile655 de acuerdo con la invención. La amplificación y/o sobreexpresión de este gen se ha descrito en numerosas neoplasias, lo que incluye los tumores de mama y ováricos. El corte y empalme alternativo resulta en muchos transcritos variantes adicionales, codificando algunos diferentes isoformas y otros aún no se han caracterizado completamente. De acuerdo con la invención, la secuencia de aminoácidos de Her2 es la secuencia de aminoácidos de acuerdo con el ID de SEC Núm. 4. De acuerdo con la invención, la secuencia de ácido nucleico del cDNA de "Her2" es la secuencia de ácido nucleico de acuerdo con el ID de SEC Núm. 8 al que se puede acceder en GenBank con el número de acceso NM_004448.2.

El "dominio extracelular de Her2" o "dominio de liberación extracelular de Her2" es una glicoproteína de entre 97 y 115 kDa que corresponde sustancialmente al dominio extracelular del producto génico Her2 humano. Puede estar referido como p105 (Zabrecky J. R. et al., J. Biol. Chem. 266 (1991) 1716-1720; US 5.401.638; US 5.604.107). La cuantificación y detección del dominio extracelular de Her2 se describe en las patentes estadounidenses US 5.401.638 y US 5.604.107.

El término "Her3" se aplica a otro miembro de los receptores tirosina quinasa de la familia del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR). Esta proteína unida a membrana no tiene un dominio activo quinasa. La pro-

teína puede unir ligandos pero no transmitir una señal en la célula. Ésta forma heterodímeros con otros miembros de la familia del receptor de EGF que tienen actividad quina-
sa, lo que da lugar a la proliferación o diferenciación ce-
5 lular. La amplificación de este gen y / o la sobreexpresión de esta proteína se encuentra en numerosas neoplasias. De acuerdo con la invención, la secuencia de aminoácidos del cDNA de "Her3" es la secuencia de aminoácidos de acuerdo con el ID de SEC Núm. 9 al que se puede acceder en GenBank
10 al traducir la secuencia de ácido nucleico de Her3 con el número de acceso NM_001005915. De acuerdo con la invención, la secuencia de ácido nucleico del cDNA de "Her3" es la se-
cuencia de ácido nucleico de acuerdo con el ID de SEC Núm. 10 al que se puede acceder en GenBank con el número de ac-
15 ceso NM_001005915.

El término "anticuerpo" se utiliza aquí en su sentido más amplio y cubre específicamente los anticuerpos monoclo-
nales intactos, los anticuerpos policlonales, los anticuer-
pos multiespecíficos (por ejemplo, los anticuerpos biespe-
20 cíficos) formados de al menos dos anticuerpos intactos, y los fragmentos de anticuerpo, siempre que tengan la activi-
dad biológica deseada.

El término "anticuerpo monoclonal" tal y como se uti-
liza aquí, se refiere a un anticuerpo obtenido de una po-
25 blación de anticuerpos sustancialmente homogéneos, es de-
cir, los anticuerpos individuales que comprende la pobla-
ción son idénticos con la excepción de posibles mutaciones
que aparecen naturalmente que pueden estar presentes en

cantidades menores. Los anticuerpos monoclonales son altamente específicos, y están dirigidos contra un único sitio antigénico. Además, al contrario que las preparaciones de anticuerpos policlonales, que incluyen diferentes anticuerpos dirigidos contra diferentes determinantes (epítomos), cada anticuerpo monoclonal se dirige contra un único determinante del antígeno. Además de su especificidad, los anticuerpos monoclonales tienen la ventaja de que pueden sintetizarse de forma no contaminada por otros anticuerpos. El modificador "monoclonal" indica el carácter del anticuerpo, su obtención a partir de una población sustancialmente homogénea de anticuerpos, y no debe interpretarse que se requiere la producción del anticuerpo mediante ningún método en particular. Por ejemplo, los anticuerpos monoclonales que se usan de acuerdo con la presente invención pueden obtenerse mediante el método del hibridoma descrito inicialmente por Kohler, G. et al., Nature 256 (1975) 495-497, o pueden obtenerse mediante métodos de DNA recombinante (véase, por ejemplo U. S. 4.816.567). Los "fragmentos de anticuerpo" comprenden una porción de un anticuerpo intacto.

Un anticuerpo "que une" un antígeno de interés de acuerdo con la invención es aquel capaz de unirse al antígeno con suficiente afinidad para que el anticuerpo sea útil en la detección de la presencia del antígeno. El anticuerpo de acuerdo con la invención es aquel que se une a Her2 humano y no reacciona de forma cruzada (significativamente) con otras proteínas. En estas realizaciones, la unión del anticuerpo a otras proteínas será inferior al 10%

como se determina mediante análisis de selección celular activada por fluorescencia (FACS) o radioinmunoprecipitación (RIA).

La dimerización - el emparejamiento de receptores - es esencial para la actividad de señalización de todos los receptores HER. De acuerdo con la invención, el término "inhibidor de la dimerización de Her" o preferiblemente "inhibidor de la heterodimerización de Her2" se refiere a un agente terapéutico que se une a Her2 e inhibe la heterodimerización de Her2. Son preferiblemente anticuerpos, preferiblemente anticuerpos monoclonales, más preferiblemente anticuerpos humanizados que se unen a Her2 e inhiben la heterodimerización de Her2. Ejemplos de anticuerpos que se unen a HER2 incluyen el 4D5, 7C2, 7F3 o 2C4 así como las variantes humanizadas de los mismos, incluyendo el huMAb4D5-1, huMAb4D5-2, huMAb4D5-3, huMAb4D5-4, huMAb4D5-5, huMAb4D5-6, huMAb4D5-7 y huMAb4D5-8 como se describe en la Tabla 3 de la patente U.S. 5.821.337; y los números de mutante del 2C4 humanizado 560, 561, 562, 568, 569, 570, 571, 574, o 56869 como se describe en la WO01/00245. El 7C2 y 7F3, y las variantes humanizadas de los mismos se describen en la WO98/17797. Este término puede no aplicarse a los anticuerpos monoclonales como el tratuzumab vendido bajo el nombre HerceptinTM ya que el mecanismo de acción es diferente y este anticuerpo no inhibe la dimerización de Her.

Es preferido a lo largo de la solicitud el "anticuerpo 2C4", en particular la variante humanizada del mismo (WO 01/00245; producida por la línea celular de hibridoma depo-

5 sitada en la American Type Culture Collection, Manassass, VA, USA bajo el nombre ATCC HB-12697), que se une a una región en el dominio extracelular de Her2 (por ejemplo, uno a más residuos cualquiera de la región entre alrededor del
10 residuo 22 a alrededor del residuo 584 de Her2, ambos incluidos). El "epítipo 2C4" es la región en el dominio extracelular de ErbB2 a la cual se une el anticuerpo 2C4. La expresión "anticuerpo monoclonal 2C4" se refiere a un anticuerpo que tiene los residuos de unión al antígeno del anticuerpo 2C4 murino, o uno derivado del mismo, de los Ejemplos en la WO 01/00245. Por ejemplo, el anticuerpo monoclonal 2C4 puede ser el anticuerpo monoclonal 2C4 murino o una variante del mismo, como el anticuerpo 2C4 humanizado, que posea los residuos aminoacídicos de unión a antígeno del
15 anticuerpo monoclonal 2C4 murino. Ejemplos de anticuerpos 2C4 humanizados se proporcionan en el Ejemplo 3 de la WO 01/00245. A menos que se indique de otro modo, cuando la expresión "rhuMAb 2C4" se usa aquí se refiere a un anticuerpo que comprende las secuencias variable ligera (VL) y
20 variable pesada (VH) de ID de SEC Núm. 3 y 4 de la WO 01/00245, respectivamente, fusionadas con las secuencias de la región constante ligera y pesada de la IgG1 humana (alotipo no A) opcionalmente expresada en células de ovario de hámster chino (CHO). Las realizaciones preferidas de la WO
25 01/00245 son también preferidas aquí. El anticuerpo 2C4 humanizado se llama también OmnitargTM o pertuzumab.

Un "equipo" es cualquier manufactura (por ejemplo paquete o contenedor) que comprenda al menos un reactivo, por

ejemplo una sonda, para la detección específica de un gen marcador o proteína de la invención. La manufactura es preferiblemente promovida, distribuida, o vendida como una unidad para realizar los métodos de la presente invención.

- 5 Los verbos "determinar" y "valorar" pueden tener el mismo significado y se utilizan de forma intercambiable a lo largo de la solicitud.

Descripción Detallada de la Invención

- 10 Las técnicas convencionales de biología molecular y química de ácidos nucleicos, que forman parte de la experiencia en la materia, se explican en la literatura. Véase, por ejemplo, Sambrook, J., et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, 1989, Gait, M. J., (ed.), Oligonucleotide synthesis - a practical approach, IRL Press Limited, 1984; Hames, B. D., y Higgins, S. J., (eds.), Nucleic acid hybridization - a practical approach, IRL Press Limited, 1985; y una serie, Methods in Enzymology, Academic Press, Inc., todos ellos incorporados aquí como referencia.
- 15 Todas las patentes, solicitudes de patente, y publicaciones mencionadas aquí, tanto anteriormente como a continuación, se incorporan aquí como referencia.
- 20 Todas las patentes, solicitudes de patente, y publicaciones mencionadas aquí, tanto anteriormente como a continuación, se incorporan aquí como referencia.

- 25 En una realización de la invención, se describe un método para la predicción de la respuesta a un tratamiento con un inhibidor de la dimerización de HER en un paciente, lo que comprende los pasos de

a) valorar en una muestra biológica del paciente

- un gen marcador o una combinación de genes marcadores seleccionados de entre el grupo que consiste en el gen marcador del factor de crecimiento epidérmico, del factor de crecimiento transformante alfa y de HER2 o
- 5 - una combinación de genes marcadores que comprende un gen marcador de la anfiregulina y un gen marcador seleccionado del gen marcador del factor de crecimiento epidérmico, del factor de crecimiento transformante alfa y de HER2, y
- 10 b) predecir la respuesta al tratamiento con el inhibidor de la dimerización de HER en el paciente mediante la evaluación de los resultados del paso a).
- Preferiblemente, en el método de acuerdo con la invención, el paso a) de valoración del gen marcador o la combinación de genes marcadores comprende
- 15 a1) valorar el nivel de expresión de gen marcador o la combinación de genes marcadores,
- a2) determinar si el nivel de expresión valorado en el paso a1) está por encima o por debajo del valor umbral.
- 20 El valor umbral es preferiblemente un valor expresado en masa / volumen para el suero o plasma sanguíneo o masa / masa para el tejido tumoral. Puede medirse mediante métodos conocidos para el experto versado en la materia y también descritos en esta invención.
- 25 En una realización preferida de la invención, si el valor está por encima o por debajo del valor umbral, puede determinarse la respuesta al tratamiento. Respecto al uso de un único gen marcador de acuerdo con la invención, la

situación es la siguiente. Respecto al gen marcador del factor de crecimiento transformante alfa solo, son favorables los niveles bajos de expresión son favorables para la supervivencia libre de progresión (tiempo hasta la muerte o progresión) y supervivencia global (tiempo hasta la muerte) tras el tratamiento con un inhibidor de la dimerización de HER, es decir, un bajo nivel de expresión del gen marcador del factor de crecimiento transformante alfa predice una buena respuesta a un tratamiento con un inhibidor de la dimerización de HER. Éste es el caso tanto para los covariados clínicos crudos como ajustados. Por lo tanto, es preferible que el nivel de expresión valorado en el paso a) del gen marcador del factor de crecimiento transformante alfa esté por debajo del valor umbral para predecir una buena respuesta al tratamiento con un inhibidor de la dimerización de HER en un paciente. Éste es también el caso del gen marcador de Her2 solo, particularmente para el dominio extracelular de Her2 soluble, y el gen marcador del factor de crecimiento epidérmico solo.

Respecto al gen marcador de anfiregulina solo, en un análisis de los datos crudos son favorables los niveles bajos de expresión para la supervivencia libre de progresión (tiempo hasta la muerte o progresión) y supervivencia global (tiempo hasta la muerte) tras el tratamiento con un inhibidor de la dimerización de HER, es decir, un bajo nivel de expresión del gen marcador de la anfiregulina predice una buena respuesta a un tratamiento con un inhibidor de la dimerización de HER. Éste es el caso tanto para los cova-

riados clínicos crudos como ajustados. Los análisis de los
datos ajustados para los covariados clínicos indican que
los niveles altos de expresión son favorables para la su-
pervivencia libre de progresión (tiempo hasta la muerte o
5 progresión) y la supervivencia global (tiempo hasta la
muerte) tras el tratamiento con un inhibidor de la dimeri-
zación de HER.

Ya que los genes marcadores, en particular en suero,
pueden utilizarse en modelos de predicción de marcador múl-
10 tiple que incluyen potencialmente otros covariados clíni-
cos, en dichos modelos no puede determinarse de forma sim-
ple la dirección de un efecto beneficiosos de un único gen
marcador, y puede contradecir la dirección encontrada en
los análisis univariados, es decir, la situación que se ha
15 descrito para el gen marcador solo.

Más preferiblemente, en el método marcador de acuerdo
con la invención, el valor umbral se determina antes del
paso a1) del método de la invención mediante

1) la valoración del nivel de expresión del gen marca-
20 dor o de la combinación de genes marcadores en una plurali-
dad de muestras biológicas de pacientes antes del trata-
miento con el inhibidor de la dimerización de HER,

2) el tratamiento de los pacientes con el inhibidor de
la dimerización de HER,

25 3) la correlación de la respuesta de los pacientes
tratados con el inhibidor de la dimerización de HER con el
nivel de expresión del gen marcador o la combinación de ge-

nes marcadores determinados en el paso a) determinando de ese modo el valor umbral.

El valor umbral es preferiblemente un valor expresado en masa / volumen para el suero o plasma sanguíneo o masa /
5 masa para el tejido tumoral.

La presente invención también considera las mutaciones o variantes del gen marcador de acuerdo con la presente invención y que se utilizan en los métodos de acuerdo con la invención. En estos mutantes o variantes, la secuencia nativa del gen marcador se cambia mediante sustituciones, de-
10 lecciones o inserciones. La "secuencia nativa" se refiere a una secuencia de aminoácidos o ácido nucleico que es idéntica a la forma tipo salvaje o nativa de un gen marcador o proteína.

15 La presente invención también considera los mutantes o variantes de las proteínas de acuerdo con la presente invención y que se utilizan en los métodos de acuerdo con la invención. Una "secuencia de aminoácidos mutante", "proteína mutante" o "polipéptido mutante" se refiere a un polipéptido con una secuencia de aminoácidos que varía de la
20 secuencia nativa o está codificada por una secuencia de nucleótidos que se ha alterado intencionadamente a partir de la secuencia nativa. Una "proteína mutante", "proteína variante" o "muteína" significa una proteína que comprende
25 una secuencia de aminoácidos mutante e incluye los polipéptidos que difieren de la secuencia de aminoácidos de la proteína nativa de acuerdo con la invención debido a deleciones y sustituciones de aminoácidos, o ambas.

La presente invención también considera un método para la predicción de la respuesta a un tratamiento con una combinación de un inhibidor de la dimerización de HER y otra sustancia o agente como un agente quimioterapéutico o un anticuerpo terapéutico utilizado para el tratamiento del cáncer. El agente quimioterapéutico puede ser por ejemplo gemcitabina (Gemzar®; nomenclatura química: 2',2'-difluorodeoxicitidina (dFdC)), carboplatino (diamina-(ciclobutano-1,1-dicarboxilato(2-)-O,O')-platino), o paclitaxel (Taxol®, nomenclatura química: éster de β-(benzoilamino)-α-hidroxi-6,12b-bis(acetiloxi)-12-(benzoiloxi)-2a,3,4,4a,5,6,9,10,11, 12,12a,12b-dodecahidro-4,11-dihidroxi-4a,8,13,13-tetrametil-5-oxo-7,11-metano-1H-ciclodeca(3,4)benz(1,2-b)oxet-9-ilo, (ácido 2aR-(2a-α,4-β,4a-β,6-β,9-α(α-R*,β-S*),11-α,12-α,12a-α,2b-α))-bencenpropanoico).

En una realización preferida de la invención, la muestra biológica es suero sanguíneo, plasma sanguíneo o tejido tumoral. El tejido tumoral puede ser fijado en formalina y embebido en parafina o tejido tumoral fresco congelado.

En otra realización preferida de la invención, el inhibidor de la dimerización de HER inhibe la heterodimerización de HER2 con EGFR o HER3. Preferiblemente, el inhibidor de la dimerización de HER es un anticuerpo, preferiblemente el anticuerpo 2C4. A lo largo de esta solicitud es preferido el "anticuerpo 2C4", en particular la variante humanizada del mismo (WO 01/00245; producido por la línea celular de hibridoma depositada en la American Type Culture Collec-

tion, Manassass, VA, USA bajo el nombre ATCC HB-12697), que se une a una región del dominio extracelular de Her2 (por ejemplo, uno o más residuos cualquiera de la región de alrededor del residuo 22 a alrededor del residuo 584 de Her2, ambos incluidos). Ejemplos de anticuerpos 2C4 humanizados se proporcionan en el Ejemplo 3 de la WO 01/00245. El anticuerpo 2C4 humanizado también se denomina Omnitarg™ o pertuzumab.

En otra realización preferida de la invención, el paciente es un paciente con cáncer, preferiblemente un paciente con cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer de pulmón o cáncer de próstata. El paciente con cáncer de mama es preferiblemente un paciente con cáncer de mama metastásico o paciente con cáncer de mama con una baja expresión de HER2, metastásico o no. El paciente con cáncer de ovario es preferiblemente un paciente con cáncer de ovario metastásico. El paciente con cáncer de pulmón es preferiblemente un paciente con cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC)

Es preferible que se utilicen en combinación dos, tres o los cuatro genes marcadores, polinucleótidos marcadores o proteínas marcadoras, es decir que se utilicen en todas las realizaciones descritas de la invención o en los métodos, usos o equipos de acuerdo con la invención. Preferiblemente, se valora el nivel de expresión de

- una combinación del gen marcador, la proteína marcadora o polinucleótido marcador del factor de creci-

miento epidérmico, el factor de crecimiento transformante alfa o el HER2,

- una combinación de genes marcadores, que comprenden un gen marcador de anfiregulina y un gen marcador seleccionado de entre un gen marcador del factor de crecimiento epidérmico, el factor de crecimiento transformante alfa o de HER2,

- una combinación del gen marcador, proteína marcadora o polinucleótido marcador del factor de crecimiento epidérmico y el factor de crecimiento transformante alfa o de HER2, o

- una combinación del gen, proteína o polinucleótido marcadores del factor de crecimiento transformante alfa y el de HER2.

En una realización particularmente preferida de la invención, la combinación de genes marcadores consiste en:

- el gen marcador del factor de crecimiento transformante alfa y de HER2, o

- el gen marcador de la anfiregulina, del factor de crecimiento epidérmico, del factor de crecimiento transformante alfa y de HER2.

En una realización preferida de la invención, el nivel de expresión de un gen marcador o la combinación de genes marcadores en la muestra se valora mediante la detección del nivel de expresión de una proteína marcadora o un fragmento de la misma o una combinación de proteínas marcadoras o fragmentos de las mismas codificadas por el gen marcador o la combinación de genes marcadores. Preferiblemente, el

nivel de expresión de la proteína marcadora o el fragmento de la misma o la combinación de proteínas marcadoras o los fragmentos de las mismas se detectan utilizando un reactivo que se une específicamente a la proteína marcadora o el
5 fragmento de la misma o la combinación de proteínas marcadoras o los fragmentos de las mismas. Preferiblemente, el reactivo se selecciona de entre el grupo que consiste en un anticuerpo, un fragmento de un anticuerpo o un derivado de un anticuerpo.

10 Hay muchos tipos diferentes de inmunoensayos que pueden utilizarse en el método de la presente invención, por ejemplo el ensayo inmunosorbente ligado a enzima (ELISA), ensayo inmunosorbente fluorescente (FIA), ensayo inmunosorbente ligado a químicos (CLIA), radioinmunoensayo (RIA), y
15 inmunoblotting. Para una revisión de los diferentes inmunoensayos que pueden utilizarse, véase: Lottspeich y Zorbas (eds.), Bioanalytik, 1ª edición 1998, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, Berlín, Alemania. Asimismo, en otra realización preferida de la invención, el nivel de expresión se determina utilizando un método seleccionado de entre
20 el grupo que consiste en proteómica, citometría de flujo, inmunocitoquímica, inmunohistoquímica, ensayo inmunosorbente ligado a enzima, ensayo inmunosorbente ligado a enzima multicanal, y variaciones de estos métodos. Asimismo, más preferiblemente, el nivel de expresión se determina
25 utilizando un método seleccionado de entre el grupo que consiste en proteómica, citometría de flujo, inmunocitoquímica, inmunohistoquímica, ensayo inmunosorbente ligado a

enzima, ensayo inmunosorbente ligado a enzima multicanal, y variaciones de estos métodos.

En otra realización preferida de la invención, el fragmento de la proteína marcadora es el dominio extracelular de la proteína marcadora HER2. Preferiblemente, el dominio extracelular de la proteína marcadora HER2 tiene un peso molecular de aproximadamente 105.000 Dalton. "Dalton" es una unidad de masa que es igual al peso de un átomo de hidrógeno, o 1.657×10^{-24} gramos.

En otra realización preferida de la invención

- la secuencia de aminoácidos de la proteína marcadora de la anfiregulina es la secuencia de aminoácidos ID de SEC Núm. 1,

- la secuencia de aminoácidos de la proteína marcadora del factor de crecimiento epidérmico es la secuencia de aminoácidos ID de SEC Núm. 2,

- la secuencia de aminoácidos de la proteína marcadora del factor de crecimiento transformante alfa es la secuencia de aminoácidos ID de SEC Núm. 3, o

- la secuencia de aminoácidos de la proteína marcadora HER2 es la secuencia de aminoácidos ID de SEC Núm. 4.

En otra realización preferida de la invención, el valor umbral en suero sanguíneo de

- la proteína marcadora del factor de crecimiento transformante alfa está entre 2,0 y 5,0 pg/ml, preferiblemente alrededor de 3,5 pg/ml,

- la proteína marcadora del factor de crecimiento epidérmico está entre 100 y 250 pg/ml, preferiblemente alrededor de 150 pg/ml, o

5 - la proteína marcadora de la anfiregulina está entre 6 y 15 pg/ml, preferiblemente alrededor de 12 pg/ml.

En otra realización preferida de la invención, el valor umbral en suero sanguíneo del dominio extracelular de la proteína marcadora HER2 está entre 12 y 22 ng/ml, preferiblemente alrededor de 18 ng/ml.

10 En otra realización preferida de la invención, el nivel de expresión del gen marcador o la combinación de genes marcadores en la muestra biológica se valora mediante la detección del nivel de expresión de un polinucleótido marcador transcrito codificado por el gen marcador o un frag-
15 mento del polinucleótido marcador transcrito o de polinucleótidos marcadores transcritos codificados por la combinación de genes marcadores o fragmentos del polinucleótido marcador transcrito. Preferiblemente, el polinucleótido marcador transcrito es un cDNA, mRNA o hnRNA o los polinucleótidos marcadores transcritos son cDNA, mRNA o hnRNA.
20

Preferiblemente, el paso de detección además comprende la amplificación del polinucleótido transcrito. La amplificación se realiza preferiblemente con la reacción en cadena de la polimerasa que amplifica específicamente los ácidos
25 nucleicos hasta una cantidad detectable. Otras posibles reacciones de amplificación son la reacción en cadena de la ligasa (LCR; Wu D. Y. y Wallace R. B., Genomics 4 (1989) 560-69; y Barany F., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88

(1991)189-193); la reacción en cadena de la ligasa polimerasa (Barany F., PCR Methods and Applic. 1 (1991) 5-16); la Gap-LCR (WO 90/01069); la reacción en cadena de reparación (EP 0439182 A2), la 3SR (Kwoh D. Y. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86 (1989) 1173-1177; Guatelli J.C., et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87 (1990) 1874-1878; WO 92/08808), y la NASBA (US 5,130,238). Además, existe la amplificación de desplazamiento de cadena (SDA), la amplificación mediada por transcripción (TMA), y la amplificación Q β (para una revisión véase por ejemplo Whelen A. C. y Persing D. H., Annu. Rev. Microbiol. 50 (1996) 349-373; Abramson R. D. y Myers T. W., Curr Opin Biotechnol 4 (1993) 41-47). Más preferiblemente, en el paso de detección se utiliza el método de la reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa transcriptasa reversa.

Otros métodos de detección de polinucleótidos son conocidos para el experto en el campo y están descritos en los libros de texto estándar como Sambrook J. et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, 1989 y Ausubel F. et al.: Current Protocols in Molecular Biology 1987, J. Wiley y Sons, NY. Pueden darse pasos de purificación adicionales antes de llevar a cabo el paso de detección del polinucleótido como por ejemplo un paso de precipitación. Los métodos de detección pueden incluir pero no se limitan a la unión o intercalado de colorantes específicos como el bromuro de etidio, que se intercala en los polinucleótidos de doble cadena y cambia así su fluorescencia. Opcionalmen-

te, el polinucleótido purificado puede también separarse mediante métodos electroforéticos tras una digestión por restricción y visualizarse posteriormente. También existen ensayos basados en sondas que utilizan la hibridación del oligonucleótido a secuencias específicas y la detección subsiguiente del híbrido. También es posible secuenciar el DNA tras los pasos adicionales conocidos por el experto en la materia. La polimerasa de DNA dependiente de molde preferida es la Taq polimerasa.

En otra realización preferida de la invención, el nivel de expresión del gen marcador se valora mediante la detección de la presencia del polinucleótido marcador transcrito o el fragmento del mismo en una muestra con una sonda que se aparee con el polinucleótido marcador transcrito o el fragmento del mismo en condiciones de hibridación severas, o el nivel de expresión de la combinación de genes marcadores en las muestras se valora mediante la detección de la presencia de polinucleótidos marcadores transcritos o los fragmentos de los mismos en una muestra con sondas que se aparean con los polinucleótidos marcadores transcritos o los fragmentos de los mismos en condiciones de hibridación severas. Este método puede realizarse en un sistema de ensayo homogéneo. Un ejemplo sistema de ensayo "homogéneo" es el sistema TaqMan® que se ha detallado en la US 5.210.015, US 5.804.375 y US 5.487.972. Brevemente, el método se basa en una sonda doblemente marcada y en la actividad exonucleasa 5'-3' de la Taq polimerasa de DNA. La sonda es complementaria a la secuencia diana a amplificar

en el proceso de PCR y está localizada entre los dos cebadores de la PCR durante cada ciclo de polimerización. La sonda tiene dos marcas fluorescentes unidas a ella. Una es un colorante marcador, como la 6-carboxifluoresceína (FAM),
5 que tiene su espectro de emisión bloqueado por transferencia de energía debido a la proximidad espacial de un segundo colorante fluorescente, la 6-carboxi-tetrametil-rodamina (TAMRA). En el transcurso de cada ciclo de amplificación, la Taq polimerasa de DNA desplaza y degrada la sonda apareada con el proceso de elongar una cadena de DNA cebada,
10 debido a la actividad exonucleasa 5'-3' intrínseca de la polimerasa. El mecanismo también libera el colorante marcador de la actividad bloqueante de TAMRA. Como consecuencia, la actividad fluorescente aumenta con el aumento de la escisión de la sonda, que es proporcional a la cantidad de producto de PCR formado. De acuerdo con esto, la secuencia diana amplificada se mide detectando la intensidad de la marca fluorescente liberada. Otro ejemplo de sistemas de ensayo "homogéneos" se proporcionan con los formatos utilizados en el instrumento LightCycler® (véase por ejemplo la
15 US 6.174.670), algunos llamados en ocasiones formatos de "sondas de beso". De nuevo, el principio se basa en dos colorantes que interaccionan, sin embargo, se caracterizan en que la longitud de onda de emisión de un colorante donador excita un colorante aceptor mediante transferencia de energía por resonancia fluorescente. El instrumento COBAS® AmpliPrep (Roche Diagnostics GmbH, D-68305 Mannheim, Alemania)
20 se ha presentado recientemente para expandir la auto-

matización mediante el aislamiento de secuencias diana que utilizan secuencias biotiniladas sondas de captura específicas junto con partículas magnéticas recubiertas de estreptavidina (Jungkind D., J Clin Virol 20 (2001) 1-6; Stelzl E. et al., J Clin Microbiol 40 (2002) 1447-1450).
Últimamente se le ha unido una herramienta adicional versátil, el equipo Total Nucleic Acid Isolation (TNAI) (Roche Diagnostics). Este reactivo para su uso en laboratorio permite el aislamiento genérico, no específico de secuencia de todos los ácidos nucleicos del plasma y suero en el instrumento COBAS® AmpliPrep, basado esencialmente en el método desarrollado por Boom R. et al., J Clin Microbiol 28 (1990) 495-503.

En otra realización preferida de la invención, la secuencia de ácido nucleico del polinucleótido marcador de la anfiregulina es la secuencia de ácido nucleico ID de SEC Núm. 5,

- la secuencia de ácido nucleico del polinucleótido marcador del factor de crecimiento epidérmico es la secuencia de ácido nucleico ID de SEC Núm. 6,

- la secuencia de ácido nucleico del polinucleótido marcador del factor de crecimiento transformante alfa es la secuencia de ácido nucleico ID de SEC Núm. 7, o

- la secuencia de ácido nucleico del polinucleótido marcador de HER2 es la secuencia de ácido nucleico ID de SEC Núm. 8.

En otra realización de la invención, una sonda que hibrida con el polinucleótido marcador del factor de creci-

miento epidérmico, del factor de crecimiento transformante alfa o de HER2 bajo condiciones severas o un anticuerpo que se une a la proteína marcadora del factor de crecimiento epidérmico, del factor de crecimiento transformante alfa o de HER2 se utiliza para la predicción de la respuesta al tratamiento con un inhibidor de la dimerización de HER en un paciente, o una sonda que hibrida con el polinucleótido marcador de la anfiregulina, del factor de crecimiento epidérmico, del factor de crecimiento transformante alfa o de HER2 bajo condiciones severas o un anticuerpo que se une a la proteína marcadora de la anfiregulina, del factor de crecimiento epidérmico, del factor de crecimiento transformante alfa o de HER2 para seleccionar una composición para la inhibición de la progresión de la enfermedad en un paciente. La enfermedad es preferiblemente cáncer y el paciente es preferiblemente un paciente con cáncer como se ha descrito anteriormente.

En otra realización de la invención, se proporciona un equipo que comprende una sonda que se aparea con el polinucleótido marcador de la anfiregulina, del factor de crecimiento epidérmico, del factor de crecimiento transformante alfa o de HER2 bajo condiciones severas o un anticuerpo que se une a la proteína marcadora de la anfiregulina, del factor de crecimiento epidérmico, del factor de crecimiento transformante alfa o de HER2. Estos equipos conocidos en la materia contienen además material de plástico que puede utilizarse durante el procedimiento de amplificación, como por ejemplo, placas microtituladas en formato de 96 o

384 pocillos o sólo tubos de reacción ordinarios manufacturados por ejemplo por Eppendorf, Hamburgo, Alemania, y todo el resto de reactivos para llevar a cabo el método de acuerdo con la invención, preferiblemente un inmunoensayo, por ejemplo el ensayo inmunosorbente ligado a enzima (ELISA), el ensayo inmunosorbente fluorescente (FIA), el ensayo inmunosorbente ligado a químicos (CLIA), el radioinmunoensayo (RIA), y el inmunoblotting. Para una revisión de los diferentes inmunoensayos y reactivos que pueden utilizarse, véase: Lottspeich y Zorbas (eds.), Bioanalytik, 1ª edición 1998, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, Berlín, Alemania. Preferiblemente se proporcionan en forma de equipo las combinaciones de las sondas o anticuerpos para los diferentes polinucleótidos marcadores o proteínas marcadoras que son las combinaciones de los polinucleótidos marcadores o proteínas marcadoras descritas anteriormente.

En otra realización de la invención, se proporciona un método de selección de una composición para la inhibición de la progresión de la enfermedad en un paciente, comprendiendo este método:

a) la exposición separada de alícuotas de una muestra biológica de un paciente con cáncer en presencia de una pluralidad de composiciones de prueba;

b) la comparación del nivel de expresión de un gen marcador o una combinación de genes marcadores seleccionados de entre el grupo que consiste en el gen marcador de la anfiregulina, del factor de crecimiento epidérmico, del factor de crecimiento transformante alfa y de HER2 en las

alícuotas de la muestra biológica puesta en contacto con las composiciones de prueba y el nivel de expresión de un gen marcador o una combinación de genes marcadores seleccionados de entre el grupo que consiste en el gen marcador de la anfiregulina, del factor de crecimiento epidérmico, del factor de crecimiento transformante alfa y de HER2 en una alícuota de la muestra biológica que no se ha puesto en contacto con las composiciones de prueba,

c) la selección de una de las composiciones de prueba que altera el nivel de expresión del gen marcador o la combinación de genes marcadores en la alícuota que contiene esta composición de prueba, en relación con la alícuota que no se ha puesto en contacto con la composición de prueba en la que una diferencia significativa o de al menos un 10% entre el nivel de expresión del gen marcador o la combinación de genes marcadores en la alícuota de la muestra biológica puesta en contacto con la composición de prueba y el nivel de expresión del gen marcador correspondiente o la combinación de genes marcadores en la alícuota de la muestra biológica que no se ha puesto en contacto con la composición de prueba, es una indicación para la selección de la composición de prueba. La enfermedad es preferiblemente cáncer y el paciente es preferiblemente un paciente con cáncer como se ha descrito anteriormente.

En otra realización de la invención, se proporciona un método de selección de una composición para la inhibición de la progresión de la enfermedad en un paciente, comprendiendo este método:

a) la exposición separada de alícuotas de una muestra biológica de un paciente con cáncer en presencia de una pluralidad de composiciones de prueba;

b) la comparación del nivel de expresión de

5 - un gen marcador o una combinación de genes marcadores seleccionados de entre el grupo que consiste en el gen marcador del factor de crecimiento epidérmico, del factor de crecimiento transformante alfa y de HER2, o de

10 - una combinación de genes marcadores que comprende un gen marcador de la anfiregulina y un gen marcador seleccionados de entre el grupo del factor de crecimiento epidérmico, del factor de crecimiento transformante alfa y de HER2,

15 en las alícuotas de la muestra biológica puesta en contacto con las composiciones de prueba y el nivel de expresión de

20 - un gen marcador o una combinación de genes marcadores seleccionado de entre el grupo que consiste en el gen marcador del factor de crecimiento epidérmico, del factor de crecimiento transformante alfa y de HER2, o una

25 - combinación de genes marcadores que comprende un gen marcador de la anfiregulina y un gen marcador seleccionado de entre el grupo del factor de crecimiento epidérmico, del factor de crecimiento transformante alfa y de HER2,

en una alícuota de la muestra biológica que no se ha puesto en contacto con las composiciones de prueba,

5 c) la selección de una de las composiciones de prueba que altera el nivel de expresión del gen marcador o la combinación de genes marcadores en la alícuota que contiene esta composición de prueba, en relación con la alícuota que no se ha puesto en contacto con la composición de prueba en la que una diferencia significativa o de al menos un 10% entre el nivel de expresión del gen marcador o la combinación de genes marcadores en la alícuota de la muestra biológica puesta en contacto con la composición de prueba y el nivel de expresión del gen marcador correspondiente o la combinación de genes marcadores en la alícuota de la muestra biológica que no se ha puesto en contacto con la composición de prueba, es una indicación para la selección de la composición de prueba. La enfermedad es preferiblemente cáncer y el paciente es preferiblemente un paciente con cáncer como se ha descrito anteriormente.

20 La expresión de un gen marcador difiere "significativamente" del nivel de expresión del gen marcador en una muestra de referencia si el nivel de expresión del gen marcador en una muestra del paciente difiere del nivel en una muestra del sujeto de referencia en una cantidad superior al error estándar del ensayo utilizado para valorar la expresión, y preferiblemente en al menos un 10%, y más preferiblemente un 25%, 50%, 75%, 100%, 125%, 150%, 175%, 200%, 300%, 400%, 500% o 1.000% de esa cantidad. Alternativamente, la expresión del gen marcador en el paciente puede con-

siderarse "significativamente" inferior al nivel de expresión en un sujeto de referencia si el nivel de expresión en una muestra del paciente es inferior al nivel en una muestra del sujeto de referencia en una cantidad superior al error estándar del ensayo utilizado para valorar la expresión, y preferiblemente en al menos un 10%, más preferiblemente un 25%, 50%, 75%, 100%, 125%, 150%, 175%, 200%, 300%, 400%, 500% o 1.000% de esta cantidad. La diferencia del nivel de expresión puede ser de hasta 10.000 o 50.000%. La diferencia del nivel de expresión está preferiblemente entre el 10% y 10.000%, más preferiblemente del 25% al 10.000%, del 50% al 10.000%, del 100% al 10.000%, y aun más preferiblemente del 25% al 5.000%, del 50% al 5.000%, del 100% al 5.000%.

En otra realización de la invención, se proporciona un método para derivar un agente candidato, comprendiendo dicho método:

a) la puesta en contacto de una alícuota de una muestra biológica de un paciente con cáncer con el agente candidato y la determinación del nivel de expresión de un gen marcador o una combinación de genes marcadores seleccionados de entre el grupo que consiste en el gen marcador de la anfiregulina, del factor de crecimiento epidérmico, del factor de crecimiento transformante alfa y de HER2 en la alícuota,

b) la determinación del nivel de expresión del gen marcador correspondiente o de la correspondiente combinación de genes marcadores en una alícuota de la muestra bio-

lógica que no se ha puesto en contacto con el agente candidato,

5 c) la observación del efecto del agente candidato mediante la comparación del nivel de expresión del gen marcador o la combinación de genes marcadores en la alícuota de la muestra biológica puesta en contacto con el agente candidato, y el nivel de expresión del gen marcador correspondiente o la correspondiente combinación de genes marcadores en la alícuota de la muestra biológica que no se ha puesto
10 en contacto con el agente candidato,

d) la derivación de dicho agente a dicho efecto observado, en el que al menos un 10% de la diferencia entre el nivel de expresión del gen marcador o la combinación de genes marcadores en la alícuota de la muestra biológica puesta
15 ta en contacto con el agente candidato, y el nivel de expresión del correspondiente gen marcador o combinación de genes marcadores en la alícuota de la muestra biológica que no se ha puesto en contacto con el agente candidato es una indicación de un efecto del agente candidato.

20 En otra realización de la invención, se proporciona un método para derivar un agente candidato, comprendiendo dicho método:

a) la puesta en contacto de una alícuota de una muestra biológica de un paciente con cáncer con el agente candidato y la determinación del nivel de expresión en la alícuota de un
25

- un gen marcador o una combinación de genes marcadores seleccionados de entre el grupo que consiste en el

101

gen marcador del factor de crecimiento epidérmico, del factor de crecimiento transformante alfa y de HER2, o una

5 - combinación de genes marcadores que comprende un gen marcador de la anfiregulina y un gen marcador seleccionado de entre el grupo del factor de crecimiento epidérmico, del factor de crecimiento transformante alfa y de HER2,

10 b) la determinación del nivel de expresión del gen marcador correspondiente o de la correspondiente combinación de genes marcadores en una alícuota de la muestra biológica que no se ha puesto en contacto con el agente candidato,

15 c) la observación del efecto del agente candidato mediante la comparación del nivel de expresión del gen marcador o la combinación de genes marcadores en la alícuota de la muestra biológica puesta en contacto con el agente candidato, y el nivel de expresión del gen marcador correspondiente o la correspondiente combinación de genes marcadores
20 en la alícuota de la muestra biológica que no se ha puesto en contacto con el agente candidato,

25 d) la derivación de dicho agente a dicho efecto observado, en el que al menos un 10% de la diferencia entre el nivel de expresión del gen marcador o la combinación de genes marcadores en la alícuota de la muestra biológica puesta en contacto con el agente candidato, y el nivel de expresión del correspondiente gen marcador o combinación de genes marcadores en la alícuota de la muestra biológica que

807

no se ha puesto en contacto con el agente candidato es una indicación de un efecto del agente candidato.

Preferiblemente, el agente candidato es un agente inhibidor candidato. Preferiblemente, dicho agente candidato es un agente estimulador candidato.

En otra realización de la invención, se proporciona un agente candidato asignado con el método de acuerdo con la invención.

En otra realización de la invención, se proporciona una preparación farmacéutica que comprende un agente de acuerdo con la invención.

En otra realización de la invención, se utiliza un agente de acuerdo con la invención para la preparación de una composición para el tratamiento del cáncer. Las formas preferidas de cáncer se han descrito anteriormente.

En otra realización preferida de la invención, se proporciona un método para producir un fármaco que comprende los pasos del método de acuerdo con la invención y

i) la síntesis del agente candidato identificado en el paso (c) o un análogo o derivado del mismo en una cantidad suficiente para proporcionar dicho fármaco en una cantidad terapéuticamente efectiva para un sujeto; y / o

ii) la combinación del fármaco candidato, el agente candidato identificado en el paso (c) o un análogo o derivado del mismo, con un transportador farmacéuticamente aceptable.

En otra realización de la invención, se utiliza una proteína marcadora o un polinucleótido marcador selecciona-

do de entre el grupo que consiste en la proteína marcadora o el polinucleótido marcador de una anfiregulina, del factor de crecimiento epidérmico, del factor de crecimiento transformante alfa y de HER2 para derivar un agente candidato o para seleccionar una composición para inhibir la progresión de una enfermedad en un paciente. La enfermedad es preferiblemente cáncer y el paciente es preferiblemente un paciente con cáncer como se ha descrito anteriormente.

En otra realización de la invención, un inhibidor de la dimerización de HER se utiliza para la elaboración de un medicamento para tratar a un paciente humano con cáncer, y se caracteriza por que dicho tratamiento incluye la valoración en una muestra biológica del paciente de

- un gen marcador o una combinación de genes marcadores seleccionados de entre el grupo que consiste en el gen marcador del factor de crecimiento epidérmico, del factor de crecimiento transformante alfa y de HER2, o una

- combinación de genes marcadores que comprende un gen marcador de la anfiregulina y un gen marcador seleccionado de entre el grupo del factor de crecimiento epidérmico, del factor de crecimiento transformante alfa y de HER2.

La elaboración de un medicamento para tratar a un paciente humano con cáncer, y particularmente la formulación se describe en WO 01/00245, que se incorpora aquí como referencia, particularmente para el anticuerpo 2C4.

En una realización preferida de la invención, en el uso de un inhibidor de la dimerización de HER para la elaboración de un medicamento para tratar a un paciente humano con cáncer, el tratamiento incluye la valoración el gen
5 marcador o la combinación de genes marcadores al menos una vez o repetidamente durante el tratamiento. Preferiblemente se valora el nivel de expresión del gen marcador o el nivel de expresión de la combinación de genes marcadores. Preferiblemente el inhibidor de la dimerización de HER es un anticuerpo, preferiblemente el anticuerpo 2C4. Preferiblemente
10 te, el paciente es un paciente con cáncer de mama, ovario, pulmón o próstata.

En todas las realizaciones de la invención, las combinaciones de los genes marcadores, polinucleótidos marcadores o proteínas marcadoras se utilizan como se descrito
15 anteriormente. En todas las realizaciones de la invención, los valores preferidos de diferencia de nivel de expresión determinado en los respectivos pasos se han descrito también anteriormente.

Los siguientes ejemplos, referencias, listado de secuencias y figuras se proporcionan para ayudar a entender la presente invención, el verdadero alcance de la misma se indica en las reivindicaciones anexadas. Se entiende que
20 pueden realizarse modificaciones en los procedimientos indicados sin alejarse del espíritu de la invención.

Descripción de las Figuras

Figura 1: Gráfico de dispersión de la transformación logarítmica de TGF-alfa frente al beneficio clínico catego-

rizado.

Figura 2: Gráfico de dispersión de la transformación logarítmica de la Anfiregulina frente al beneficio clínico categorizado.

5 Figura 3: Beneficio clínico ordinal de TGF-alfa

Figura 4: Beneficio clínico ordinal de la anfiregulina

Figura 5: Beneficio clínico ordinal de EGF

Figura 6: Beneficio clínico ordinal de HER2-ECD

Figura 7: Revisión exploratoria de los valores de los
10 puntos de corte y rango-log de p de TTP y TTD para Anfiregulina, EGF, TGF-alfa y HER2-ECD

Figura 8: Representación de Kaplan Meier de TGF-alfa para el tiempo hasta la progresión/ muerte basado en el punto de corte del marcador único exploratorio

15 Figura 9: Representación de Kaplan Meier de TGF-alfa para el tiempo hasta la muerte basado en el punto de corte de marcador único exploratorio

Figura 10: Representación de Kaplan Meier de anfiregulina para el tiempo hasta la progresión/ muerte basado en
20 el punto de corte de marcador único exploratorio

Figura 11: Representación de Kaplan Meier de anfiregulina para el tiempo hasta la muerte basado en el punto de corte de marcador único exploratorio

Figura 12: Representación de Kaplan Meier de EGF para
25 el tiempo hasta la progresión/ muerte basado en el punto de corte de marcador único exploratorio

Figura 13: Representación de Kaplan Meier de EGF para el tiempo hasta la muerte basado en el punto de corte de

marcador único exploratorio

Figura 14: Representación de Kaplan Meier de HER2-ECD para el tiempo hasta la progresión/ muerte basado en el punto de corte de marcador único exploratorio

5 Figura 15: Representación de Kaplan Meier de HER2-ECD para el tiempo hasta la muerte basado en el punto de corte de marcador único exploratorio

Figura 16: Como ejemplo para una puntuación de combinación, mejorando además la separación entre los grupos de mayor beneficio clínico/ menor beneficio clínico en TTP: combinación de beneficio clínico ordinal de HER2-ECD TGF alfa

10

Figura 17: Revisión exploratoria de los valores de los puntos de corte y rango-log de p para TTP y TTD para una combinación de TGF-alfa y HER2-ECD

15

Figura 18: Representación de Kaplan Meier de HER2-ECD/TGF-alfa para el tiempo hasta la progresión/ muerte basado en el punto de corte de marcador de combinación exploratorio

20 Figura 19: Representación de Kaplan Meier de HER2-ECD/TGF-alfa para el tiempo hasta la muerte basado en el punto de corte de marcador de combinación exploratorio

106

113

Ejemplos

Métodos estadísticos

Las tareas estadísticas comprenden los siguientes pasos:

- 5 1. Preselección de biomarcadores candidato
2. Preselección de covariados de pronóstico clínico relevante
3. Selección de funciones de predicción de biomarcador a un nivel univariado
- 10 4. Selección de funciones de predicción de biomarcador incluyendo covariados clínicos a un nivel univariado
5. Selección de funciones de predicción de biomarcador a un nivel multivariado
6. Selección de funciones de predicción de biomarcador
- 15 incluyendo covariados clínicos a un nivel multivariado

El siguiente texto detalla los diferentes pasos:

- Ad1: Preselección de biomarcadores candidato:** La preselección estadística de biomarcadores candidato se orienta a la potencia de la asociación con las mediciones del beneficio clínico. Para este propósito, los diferentes criterios de valoración clínicos pueden transformarse en puntuaciones indirectas derivadas, como por ejemplo, una derivación ordinal del grado de beneficio clínico o puntuaciones de morbilidad respecto al TTP o TTD que evita las observaciones censuradas. Estas medidas indirectas transformadas pueden utilizarse fácilmente para el análisis de correlación simple, p. ej., mediante la aproximación de correlación no paramétrica del rango de Spearman. Una alternativa

aquí es utilizar las mediciones de biomarcador como covariados métricos en los modelos de regresión "tiempo hasta el evento", como p. ej., la regresión de riesgo proporcional de Cox. Dependiendo de la distribución estadística de los valores del biomarcador, este paso puede necesitar algún procesamiento previo, como p. ej., transformaciones estabilizantes de la varianza y la utilización de escalas adecuadas o, alternativamente, un paso de estandarización como p. ej., utilizar percentiles en lugar de mediciones crudas. Otra aproximación es la inspección de gráficos de dispersión bivariados, p. ej., mostrando la dispersión de (eje x= valor del biomarcador, eje-y= medida del beneficio clínico) en base a un solo paciente. También puede ser útil aquí alguna línea de regresión no paramétrica como p. ej., la que se consigue mediante el suavizado de las curvas, para visualizar la asociación de biomarcador y beneficio clínico.

El fin de estas diferentes aproximaciones es la preselección de candidatos de biomarcador, que muestren alguna asociación con el beneficio clínico en al menos una de las mediciones de beneficio empleadas, mientras que los resultados para otras mediciones no sean contradictorios. Cuando están disponibles grupos control, las diferencias en la asociación de biomarcadores con beneficio clínico en los diferentes brazos puede ser un signo de predicción diferencial que hace al biomarcador elegible para una posterior consideración.

Ad2: Preselección de covariados de pronóstico clínico relevante: El término "covariado clínico" se utiliza aquí

109

para describir toda la otra información sobre el paciente, que está en general disponible en el nivel basal. Estos covariados clínicos comprenden información demográfica como el sexo, la edad, etc., otra información anamnésica, enfermedades concomitantes, terapias concomitantes, resultados de exámenes físicos, parámetros de laboratorio comunes obtenidos, propiedades conocidas del tumor diana, información que cuantifica la extensión de la enfermedad maligna, puntuaciones clínicas realizadas como ECOG o índice de Karnofsky, estadio clínico de la enfermedad, tiempo y resultado de los pretratamientos, e historial de la enfermedad, así como toda la información similar, que pueda estar asociada con el pronóstico clínico. La preselección estadística de los covariados clínicos es paralela a las aproximaciones para la preselección de biomarcadores y también está orientada a la potencia de la asociación con las mediciones de beneficio clínico. Por lo que en principio los mismos métodos se aplican como se considera en 1. Además de los criterios estadísticos, también se pueden aplicar criterios desde la experiencia clínica y el conocimiento teórico para preseleccionar covariados clínicos relevantes.

El pronóstico mediante covariados clínicos puede influir con el pronóstico de los biomarcadores. Éstos se considerarán para las reglas de predicción refinadas si es necesario.

Ad3: Selección de funciones de predicción de biomarcador a un nivel univariado: El término "función de predicción" podrá utilizarse en un sentido general para indicar

178

la función numérica de una medición del biomarcador que resulta en un número que se escala para implicar la predicción diana.

Un ejemplo sencillo es la elección de la función Heaviside para un punto de corte c específico y una medición de biomarcador x , en la que debe realizarse la predicción binaria A o B, entonces

Si $H(x-c)=0$ entonces predice A.

Si $H(x-c)=1$ entonces predice B.

Esta es probablemente la vía más común de utilizar mediciones de biomarcador univariado en las reglas de predicción. La definición de una función de predicción normalmente recurre a un grupo de datos de entrenamiento existentes que pueden utilizarse para explorar las posibilidades de predicción. Para poder alcanzar un punto de corte c adecuado para el grupo de entrenamiento, se pueden tomar diferentes rutas. Primero, el gráfico de dispersión con la curva suavizada mencionado en 1 puede utilizarse para definir el punto de corte. Alternativamente puede escogerse algún percentil de la distribución, p. ej., la mediana o un cuartil. Los puntos de corte también pueden extraerse de forma sistemática investigando todos los posibles puntos de corte de acuerdo con su potencial de predicción respecto a las mediciones de beneficio clínico. Entonces estos resultados pueden representarse permitiendo una selección manual o para emplear algún algoritmo de búsqueda para la optimización. Esto se realizó en base a los criterios de valoración de TTP y TTD utilizando un modelo Cox, en el que cada punto de

1 corte de prueba se utilizó el biomarcador como un covariado
binario. Los criterios de predicción fueron las proporcio-
nes de riesgo resultantes. Entonces, los resultados del TTP
y TTD pueden considerarse conjuntamente para escoger un
5 punto de corte que muestre la predicción de acuerdo con am-
bos criterios de valoración.

Otra aproximación no común para escoger una función de
predicción puede basarse en un parámetro fijado en un mode-
lo de regresión de Cox obtenido del grupo de entrenamiento
10 con valores del biomarcador (posiblemente transformados)
como covariado. Entonces, la predicción puede depender sen-
cillamente de si la proporción de riesgo computada es infe-
rior o mayor de 1.

Otra posibilidad es basar la decisión en alguna pro-
15 porción de probabilidad (o transformación monotónica de és-
ta), en la que las densidades de probabilidad de la diana
se predeterminaron en el grupo de entrenamiento para la se-
paración de los estados de predicción. Entonces el biomar-
cador puede aplicarse a alguna función de proporciones de
20 densidad.

Ad4: Selección de funciones de predicción de biomarca-
dor incluyendo covariados clínicos a un nivel univariado:
Univariado se refiere aquí a la utilización de un sólo bio-
marcador - respecto a los covariados clínicos éste puede
25 ser un modelo multivariado. Esta aproximación es paralela a
la búsqueda sin covariados clínicos, sólo que estos métodos
permiten la incorporación de información de covariado rele-
vante. El método del gráfico de dispersión para escoger un

punto de corte permite sólo un uso limitado de covariados, p. ej., un covariado binario puede estar codificado con un color en la representación gráfica. Cuando el análisis recae en alguna aproximación de regresión normalmente se facilita el uso de covariados (también muchos de ellos a la vez). La búsqueda del punto de corte basado en el modelo de Cox descrito en 3, permite la fácil incorporación de covariados y por lo tanto lleva a la búsqueda de un punto de corte univariado ajustado por el covariado. El ajuste mediante covariados puede realizarse como covariados en el modelo o mediante la inclusión en un análisis estratificado.

Las otras elecciones de funciones de predicción también permiten la incorporación de covariados.

Esto es un motivo claro para la elección del modelo de Cox como función de predicción. Existe la opción de estimar la influencia de covariados en un nivel de interacción, que significa que p.ej., para diferentes grupos de edad, se aplican diferentes proporciones de riesgo.

Para las funciones de predicción de tipo proporción de probabilidad, las densidades de predicción deben estimarse incluyendo covariados. Aquí puede utilizarse la metodología de reconocimiento de patrón multivariado o los valores de biomarcador pueden ajustarse mediante regresión múltiple sobre los covariados (antes de la estimación de densidad).

La tecnología CART (Classification and Regression Trees; Breiman L, Friedman JH, Olshen RA, Stone CJ. Classification and regression trees. Chapman & Hall (Wadsworth,

Inc.): New York, 1984) puede utilizarse para un biomarcador (nivel de medición crudo) más los covariados clínicos utilizando una medida del beneficio clínico como respuesta. Los puntos de corte se buscan de esta manera y se puede encontrar una función de tipo árbol de decisión que involucra los covariados para la predicción. Los puntos de corte y algoritmos escogidos mediante CART están frecuentemente cercanos al óptimo y pueden estar combinados y unificados considerando diferentes mediciones del beneficio clínico.

10 **Ad5: Selección de funciones de predicción de biomarcador a un nivel multivariado:** Cuando hay varios candidatos de biomarcador que mantienen su potencial de predicción dentro de las diferentes elecciones de función de predicción univariada, entonces puede alcanzarse una mejora mediante la combinación de biomarcadores, es decir, considerando funciones de predicción multivariadas.

Basado en el modelo de función simple Heaviside, pueden evaluarse combinaciones de biomarcadores, p. ej., considerando gráficos de dispersión de los valores de biomarcador bivariado en los que se indican los puntos de corte óptimos. Entonces, una combinación de biomarcadores pueden alcanzarse mediante la combinación de diferentes funciones Heaviside mediante los operadores lógicos AND y OR para lograr un predicción mejorada.

25 La tecnología CART (Árboles de clasificación y regresión) puede utilizarse para biomarcadores múltiples (nivel de medición crudo) y una medición del beneficio clínico como respuesta, para alcanzar los puntos de corte para los

biomarcadores y funciones para la predicción de tipo árbol de decisión. Los puntos de corte y algoritmos escogidos mediante CART están frecuentemente cercanos al óptimo y pueden combinarse y unificarse considerando las diferentes mediciones del beneficio clínico.

La regresión de Cox puede emplearse a diferentes niveles. Una primera vía es incorporar los múltiples biomarcadores de forma binaria (es decir, basado en unas funciones Heaviside con algunos puntos de corte). La otra opción es emplear biomarcadores de una forma métrica (tras las transformaciones adecuadas), o una mezcla de una aproximación binaria y métrica. La función de predicción multivariada generada es del tipo Cox como se describe en 3.

La aproximación de la proporción de probabilidad multivariada es difícil de entender pero se presenta como una opción para las funciones de predicción multivariadas.

Ad6: Selección de funciones de predicción de biomarcador incluyendo covariados clínicos a un nivel multivariado: Si hay covariados clínicos relevantes, puede lograrse una mejora clínica relevante combinando los múltiples biomarcadores con covariados clínicos múltiples. Las diferentes elecciones de función de predicción serán evaluadas respecto a las posibilidades de incluir covariados clínicos.

Basado en las combinaciones lógicas simples de las funciones de Heaviside para los biomarcadores, pueden incluirse otros covariados en la función de predicción en base al modelo de regresión logístico obtenido en el grupo de entrenamiento.

La tecnología CART y los árboles de decisión generados pueden utilizarse fácilmente con covariados adicionales, que pueden incluirlos en el algoritmo de predicción.

5 Todas las funciones de predicción basadas en la regresión de Cox pueden utilizar otros covariados clínicos. Existe la opción de estimar la influencia de los covariados en un nivel de interacción, lo que significa que p.ej., para diferentes grupos de edad, se aplican diferentes proporciones de riesgo.

10 La aproximación de la proporción de probabilidad multivariada no es directamente extensible a la utilización de covariados adicionales.

Ejemplo 1

15 Valoración de los niveles basales de los ligandos de HER y de HER2 liberado (HER2 ECD), en sueros sanguíneos de pacientes con cáncer de mama metastásico con bajos niveles de expresión de HER2 tratados con Omnitarg, como se describe a continuación.

20 Equipos utilizados para la valoración de los biomarcadores de suero:

Marcador	Ensayo	Distribución
HER2-ECD	ELISA HER-2/neu de Bayer, Núm. Cat.: EL501	DakoCytomation N.V./S.A., Interleuvenlaan 12B, B-3001 Heverlee
Anfiregulina	Sistema de desarrollo de ELISA DuoSet de la anfiregulina humana, Núm. Cat.:	R&D Systems Ltd., 19 Barton Lane, Abingdon OX14 3NB, UK

	DY262	
EGF	Equipo ELISA Quantikine de EGF humano, Núm. Cat.: DEG00	R&D Systems Ltd., 19 Barton Lane, Abingdon OX14 3NB, UK
TGF-alfa	Inmunoensayo Quantikine® de TGF-alfa humano, Núm. Cat.: DTGA00	R&D Systems Ltd., 19 Barton Lane, Abingdon OX14 3NB, UK

Protocolos:

HER2-ECD:

El ELISA de HER2-ECD se realizó de acuerdo con las recomendaciones del fabricante.

5 Anfiregulina:

- Preparar todos los reactivos (proporcionados con el equipo), diluciones estándar (proporcionados con el equipo) y muestras

10 - Colocar en el marco las tiras de microplaca Even-Coat IgG de cabra anti-ratón (R&D, Núm. Cat. CP002; no proporcionado con el equipo). El marco se llama ahora placa de ELISA.

- Determinar el número necesario de pocillos (número de diluciones estándar + número de muestras).

15 - Determinar la plantilla de la placa.

- Añadir 100 µl de anticuerpo de captura diluido (proporcionado con el equipo; 1:180 en PBS) a cada pocillo.

- Incubar a T.A. durante 1 hora.

- Aspirar cada pocillo y lavar, repitiendo el pro-

ceso tres veces para un total de cuatro lavados. Lavar llenando cada pocillo con 400 μ l de tampón de lavado (no proporcionado con el equipo; se utilizó Tween-20 al 0,05% en PBS), utilizando un dispensador multicanal, y posterior aspiración. Tras el último lavado, eliminar cualquier resto de tampón de lavado aspirando. Invertir la placa y golpearla contra toallitas de papel limpias.

5 - Añadir 100 μ l de dilución estándar o muestra diluida (ver abajo) por pocillo. Cambiar las puntas tras cada paso de lavado.

 - Cubrir la placa con la tira adhesiva (proporcionada con el equipo).

 - Incubar durante 2 horas a T.A. en una plataforma agitadora.

15 - Repetir la aspiración/lavado como se ha descrito antes.

 - Las muestras aspiradas y las soluciones de lavado son tratados con desinfectante de laboratorio.

20 - Añadir 100 μ l de anticuerpo de detección (proporcionados con el equipo) diluido 1:180 en diluyente de reactivo (no proporcionado con el equipo; se utilizó BSA al 1% en PBS (Roth; Fracción de Albúmina V, Núm. Cat. T844.2) por pocillo

 - Incubar durante 2 horas a T.A.

25 - Repetir la aspiración/lavado como se ha descrito antes.

 - Añadir 100 μ l de dilución de trabajo de Streptavidina-HRP a cada pocillo (proporcionado con el equipo; di-

lución 1:200 en diluyente de reactivo). Cubrir con una nueva tira adhesiva.

- Incubar durante 20 min a T.A.
- Repetir la aspiración/lavado como se ha descrito antes.
- Añadir 100 μ l de solución de sustrato (R&D, Núm. Cat. DY999; no proporcionada con el equipo) a cada pocillo.
- Incubar durante 20 min a T.A. Proteger de la luz.
- Añadir 50 μ l de solución de parada (H_2SO_4 1,5 M (Schwefelsäure reinst, Merck, Núm. Cat. 713); no proporcionado con el equipo) a cada pocillo. Mezclar con cuidado.
- Determinar la densidad óptica de cada pocillo inmediatamente, utilizando un lector de microplacas ajustado a 450 nm.

15 Curva estándar de Anfiregulina:

Se preparó una solución de reserva de anfiregulina de 40 ng/ml en BSA al 1% en PBS, se hicieron alícuotas y se almacenaron a $-80^{\circ}C$. Las soluciones de anfiregulina en BSA al 20% en PBS no son estables después de 2 semanas y por lo tanto no se utilizaron. De la solución de reserva en alícuotas de anfiregulina, se preparó la curva estándar de anfiregulina en BSA al 20% en PBS antes de cada experimento. La mayor concentración fue de 1000 pg/ml (dilución 1:40 de la solución de reserva de anfiregulina). Los estándares proporcionados con el equipo de ELISA produjeron una curva estándar lineal. El análisis en Excel de las curvas permitió la determinación de las ecuaciones de la curva para cada ELISA.

119

Muestras de anfiregulina:

Cuando las muestras se diluyeron 1:1 en diluyente de reactivo, todas las muestras estaban en el rango lineal del ELISA. Cada muestra se midió en duplicados. Dependiendo de la calidad de los datos, y de las cantidades suficientes de suero, las determinaciones se repitieron en experimentos posteriores cuando fue necesario.

EGF:

- 10 - Preparar todos los reactivos (proporcionados con el equipo), diluciones estándar (proporcionados con el equipo) y muestras
 - Eliminar el exceso de anticuerpo de las tiras de la placa microtitulada (proporcionado con el equipo) del marco. El marco se llama ahora placa de ELISA.
- 15 - Determinar el número necesario de pocillos: (número de diluciones estándar + número de muestras) x 2.
- Determinar la plantilla de la placa.
- Añadir 50 μ l de diluyente de ensayo RD1 (proporcionados con el equipo) a cada pocillo
- 20 - Añadir 200 μ l de dilución estándar o muestra diluida (p. ej., 1:20 en diluyente calibrador RD6H) por pocillo. Cambiar las puntas tras cada paso de pipeteado.
- Cubrir la placa con la tira adhesiva (proporcionada con el equipo).
- 25 - Incubar durante 2 horas a T.A. en una plataforma agitadora.
- Aspirar cada pocillo y lavar, repitiendo el pro-

126

ceso tres veces para un total de cuatro lavados. Lavar llevando cada pocillo con 400 μ l de tampón de lavado (proporcionado con el equipo), utilizando un dispensador multicanal, y posterior aspiración. Tras el último lavado, eliminar cualquier resto de tampón de lavado aspirando. Invertir la placa y golpearla contra toallitas de papel limpias.

- Las muestras aspiradas y las soluciones de lavado son tratadas con desinfectante de laboratorio.

- Añadir 200 μ l de conjugado (proporcionado con el equipo) a cada pocillo. Cubrir con una nueva tira adhesiva.

- Incubar durante 2 horas a T.A.

- Repetir la aspiración/lavado como se ha descrito antes.

- Añadir 200 μ l de solución de sustrato (proporcionados con el equipo) a cada pocillo.

- Incubar durante 20 min a T.A. Proteger de la luz.

- Añadir 50 μ l de solución de parada (proporcionada con el equipo) a cada pocillo. Mezclar con cuidado.

- Determinar la densidad óptica de cada pocillo en 30 minutos, utilizando un lector de microplacas ajustado a 450 nm.

Curva estándar de EGF:

Los estándares proporcionados con el equipo de ELISA produjeron una curva estándar lineal. Concentraciones muy bajas también mostraron resultados detectables.

Muestras de EGF:

Se realizaron un total de cuatro ensayos con las muestras. Cada muestra se midió 2 - 5 veces, siendo el número

de determinaciones dependiente de la calidad de los resultados (media +/- DE) y de la disponibilidad de cantidad suficiente de suero. Cuando las muestras se diluyeron 1:20 en el diluyente calibrador RD6H, todas las muestras estaban dentro del rango lineal del ELISA.

TGF-alfa:

- Preparar todos los reactivos (proporcionados con el equipo), diluciones estándar (proporcionadas con el equipo) y muestras
- 10 - Eliminar el exceso de anticuerpo de las tiras de la placa microtitulada (proporcionada con el equipo) del marco. El marco se llama ahora placa de ELISA.
- Determinar el número necesario de pocillos: (número de diluciones estándar + número de muestras) x 2.
- 15 - Determinar la plantilla de la placa.
- Añadir 100 μ l de diluyente de ensayo RD1W (proporcionado con el equipo) a cada pocillo
- Añadir 50 μ l de dilución estándar o muestra por pocillo. Cambiar las puntas tras cada paso de pipeteado.
- 20 - Cubrir la placa con la tira adhesiva (proporcionada con el equipo).
- Incubar durante 2 horas a T.A. en una plataforma agitadora.
- Aspirar cada pocillo y lavar, repitiendo el proceso tres veces para un total de cuatro lavados. Lavar llevando cada pocillo con 400 μ l de tampón de lavado (proporcionado con el equipo), utilizando un dispensador multicanal, y posterior aspiración. Tras el último lavado, elimi-
- 25

nar cualquier resto de tampón de lavado aspirando. Invertir la placa y golpearla contra toallitas de papel limpias.

- Las muestras aspiradas y las soluciones de lavado son tratadas con desinfectante de laboratorio.

5 - Añadir 200 μ l de conjugado de TGF-alfa (proporcionado con el equipo) a cada pocillo. Cubrir con una nueva tira adhesiva.

- Incubar durante 2 horas a T.A.

10 - Repetir la aspiración/lavado como se ha descrito antes.

- Añadir 200 μ l de solución de sustrato (proporcionada con el equipo) a cada pocillo.

- Incubar durante 30 min a T.A. Proteger de la luz.

15 - Añadir 50 μ l de solución de parada (proporcionada con el equipo) a cada pocillo. Mezclar con cuidado.

- Determinar la densidad óptica de cada pocillo en 30 minutos, utilizando un lector de microplacas ajustado a 450 nm.

Curva estándar de TGF-alfa:

20 Los estándares proporcionados con el equipo de ELISA produjeron una curva estándar lineal. Concentraciones muy bajas también mostraron resultados detectables.

Muestras de TGF-alfa:

25 Se realizaron un total de cuatro ensayos con las muestras. Las muestras se midieron en 2 - 4 ensayos independientes.

Los datos en suero se analizaron para identificar los factores, de los que los niveles basales en suero podrían

122

129

123

asociarse con la respuesta al tratamiento de Omnitarg. Para todos los factores se observó un patrón asimétrico de la distribución (media, desviación estándar, mediana, mínimo, máximo). Para reducir la asimetría se utilizó una transformación monotónica basada en el logaritmo: $\text{Log}(x+1)$. En un análisis univariado, se exploró si los puntos de corte adecuados para los factores podían definirse para relacionarse con la probabilidad de respuesta (en este ejemplo definida como beneficio clínico). Aquí, los pacientes con beneficio clínico se definen como aquellos que alcanzan una respuesta parcial (RP) o una enfermedad mantenida de forma estable durante al menos 6 meses. Se investigaron los gráficos de dispersión de los factores frente a las categorías de respuesta. La Figura 1 y la Figura 2 muestran una representación de las categorías de respuesta clínica frente a la transformación logarítmica de los niveles de TGF-alfa y anfiregulina en suero, respectivamente, para ejemplificar la aproximación.

En base a los gráficos de dispersión, se seleccionaron los puntos de corte de los factores para definir los grupos de pacientes que han experimentado mayor beneficio clínico. La Figura 3 (TGF-alfa), Figura 4 (Anfiregulina), Figura 5 (EGF), y Figura 6 (HER2-ECD) muestran el beneficio clínico en relación con los diferentes agrupamientos de factores basados en los puntos de corte exploratorios calculados para las unidades originales de factor. Los puntos de corte separan algunos de los pacientes sin beneficio clínico, y por lo tanto, elevan la tasa de respuesta para el grupo con

130

mayor beneficio clínico.

Ejemplo 2

En este ejemplo se utilizaron los puntos de corte exploratorios del Ejemplo 1 para valorar el efecto univariado de los grupos de factores sobre las diferentes mediciones del beneficio clínico del tratamiento con Omnitarg, utilizando el tiempo hasta la progresión/o muerte (TTP) y el tiempo hasta la muerte (TTD) como criterios de valoración clínicos alternativos. En las estimaciones Kaplan-Meier y pruebas de rango-log para el TTP y / o TTD, se observaron efectos significativos para TGF-alfa, Anfiregulina, EGF y HER2-ECD, como se muestra en la Figura 7.

Las representaciones de Kaplan-Meier que muestran la proporción de riesgo para el TTP y TTD (mayor número de eventos observados) se dan en la Figura 8 y Figura 9 (TGF-alfa), 10 y 11 (Anfiregulina), 12 y 13 (EGF), y 14 y 15 (HER2-ECD), y muestran el pronunciado efecto de un agrupamiento basado en estos factores en la evolución clínica de los pacientes tratados con Omnitarg.

Ejemplo 3

En este ejemplo se utilizaron aproximaciones multivariadas para identificar las combinaciones de los factores que pueden mejorar la identificación de pacientes con un mayor beneficio del tratamiento con Omnitarg. Los resultados están reflejados como se derivan de una aproximación CART (Árboles de Clasificación y Regresión). La aproximación de la clasificación CART hace necesario especificar como grupo de beneficio todos los valores de beneficio clí-

nico por encima de 0. Se emplearon como variables los niveles en suero de Her2-ECD, TGF-alfa, Anfiregulina y EGF. Se seleccionó una combinación de niveles en suero de Her2-ECD y TGF-alfa para proporcionar mejores resultados. A partir
5 de los resultados de CART se derivaron los puntos de corte para una combinación de niveles en suero de Her2-ECD y TGF-alfa, lo que resulta en una regla para la categorización exploratoria del beneficio clínico en la población de estudio - una combinación de valores bajos en suero de Her2-ECD
10 y TGF-alfa, lo que captura 2/2 PR y 2/3 DE>6 meses en la población de estudio y excluye un número razonable de pacientes con progresión rápida. La Figura 16 muestra el beneficio clínico en relación al agrupamiento de combinación de TGF-alfa / HER2-ECD basado en el punto de corte de la
15 combinación exploratoria. La Figura 17 resume el efecto de una combinación de TGF-alfa y HER2-ECD sobre el TTP y TTD. Las estimaciones de Kaplan-Meier y las proporciones de riesgo dadas en la Figura 18 (TTP) y Figura 19 (TTD) demuestran un efecto significativo del agrupamiento basado en
20 una combinación de estos factores sobre la evolución clínica de los pacientes tratados con Omnitarg.

Reivindicaciones de la Patente

1. Un método para predecir la respuesta a un tratamiento con un inhibidor de la dimerización de HER en un paciente, que comprende los pasos de

5 a) valorar en una muestra biológica de un paciente

- un gen marcador o una combinación de genes marcadores seleccionados de entre el grupo que consiste en el gen marcador del factor de crecimiento epidérmico, del factor de crecimiento transformante alfa y de HER2, o

10 una

- combinación de genes marcadores que comprende un gen marcador de la anfiregulina y un gen marcador seleccionado de entre el gen marcador del factor de crecimiento epidérmico, del factor de crecimiento transformante alfa y de HER2 y

15

b) predecir la respuesta al tratamiento con el inhibidor de la dimerización de HER en el paciente mediante la evaluación de los resultados del paso a).

2. El método de acuerdo con la reivindicación 1 en el que el paso a) de valoración del gen marcador o la combinación de genes marcadores comprende

20

a1) la valoración del nivel de expresión del gen marcador o la combinación de genes marcadores,

a2) determinar si el nivel de expresión valorado en el paso a1) está por encima o por debajo del valor umbral.

25

3. El método de acuerdo con la reivindicación 2 en el que el valor umbral se determina antes del paso a1) del mé-

todo de la reivindicación 2 mediante

- 1) la valoración del nivel de expresión del gen marcador o la combinación de genes marcadores en una pluralidad de muestras biológicas de pacientes antes del tratamiento con el inhibidor de la dimerización de HER,
 - 2) el tratamiento de los pacientes con el inhibidor de la dimerización de HER,
 - 3) la correlación de la respuesta de los pacientes tratados con el inhibidor de la dimerización de HER con el nivel de expresión del gen marcador o la combinación de genes marcadores determinados en el paso a) determinando así el valor umbral.
4. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 en el que la muestra biológica es suero sanguíneo, plasma sanguíneo o tejido tumoral.
5. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 en el que el inhibidor de dimerización de HER inhibe la heterodimerización de HER2 con EGFR o HER3.
6. El método de acuerdo con la reivindicación 5 en el que el inhibidor de dimerización de HER es un anticuerpo, preferiblemente el anticuerpo 2C4.
7. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 en el que el paciente es un paciente con cáncer, preferiblemente un paciente con cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer de pulmón o cáncer de próstata.
8. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 en el que la combinación de genes marcadores

res consiste en:

- el gen marcador del factor de crecimiento transformante alfa y de HER2, o
- el gen marcador de la anfiregulina, del factor de crecimiento epidérmico, del factor de crecimiento transformante alfa y de HER2.

9. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en el que el nivel de expresión del gen marcador o la combinación de genes marcadores en la muestra se valora mediante la detección del nivel de expresión de una proteína marcadora o un fragmento de la misma o una combinación de proteínas marcadoras o fragmentos de las mismas codificadas por el gen marcador o la combinación de genes marcadores.

10. El método de la reivindicación 9, en el que el nivel de expresión de la proteína marcadora o un fragmento de la misma o la combinación de proteínas marcadoras o fragmentos de las mismas se detecta utilizando un reactivo que se une específicamente a la proteína marcadora o al fragmento de la misma o a la combinación de proteínas marcadoras o fragmentos de las mismas.

11. El método de la reivindicación 10 en el que el reactivo se selecciona del grupo que consiste en un anticuerpo, un fragmento de un anticuerpo o de un derivado de un anticuerpo.

12. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 9 a 11 en el que el nivel de expresión se determina utilizando un método seleccionado del grupo que con-

siste en proteómica, citometría de flujo, inmunocitoquímica, inmunohistoquímica, ensayo inmunosorbente ligado a enzima, ensayo inmunosorbente ligado a enzima multicanal, y variaciones de estos métodos.

5 13. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 9 a 12 en el que el fragmento de la proteína marcadora es el dominio extracelular de la proteína marcadora de Her2.

10 14. El método de acuerdo con la reivindicación 13 en el que el dominio extracelular de la proteína marcadora de Her2 tiene una masa molecular de aproximadamente 105.000 Dalton.

 15. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 9 a 14

15 en el que la secuencia de aminoácidos de la proteína marcadora de la anfiregulina es la secuencia de aminoácidos ID de SEC Núm. 1,

 en el que la secuencia de aminoácidos de la proteína marcadora del factor de crecimiento epidérmico es la secuencia de aminoácidos ID de SEC Núm. 2,

20 en el que la secuencia de aminoácidos de la proteína marcadora del factor de crecimiento transformante alfa es la secuencia de aminoácidos ID de SEC Núm. 3, o

 en el que la secuencia de aminoácidos de la proteína marcadora HER2 es la secuencia de aminoácidos ID de SEC Núm. 4.

25 16. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 9 a 15 en el que el valor umbral en suero san-

guíneo de

- la proteína marcadora del factor de crecimiento transformante alfa está entre 2,0 y 5,0 pg/ml, preferiblemente alrededor de 3,5 pg/ml,
- 5 - la proteína marcadora del factor de crecimiento epidérmico está entre 100 y 250 pg/ml, preferiblemente alrededor de 150 pg/ml, o
- la proteína marcadora de la anfiregulina está entre 6 y 15 pg/ml, preferiblemente alrededor de 12
- 10 pg/ml.

17. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 13 a 15 en el que el valor umbral en suero sanguíneo del dominio extracelular de la proteína marcador de Her2 está entre 12 y 22 ng/ml, preferiblemente alrededor de

15 18 ng/ml.

18. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en el que el nivel de expresión del gen marcador o la combinación de genes marcadores en la muestra biológica se valora detectando el nivel de expresión de un

20 polinucleótido marcador transcrito codificado por el gen marcador o un fragmento del polinucleótido marcador transcrito o de polinucleótidos marcadores transcritos codificados por la combinación de genes marcadores o fragmentos del polinucleótido marcador transcrito.

25 19. El método de la reivindicación 18 en el que el polinucleótido marcador transcrito es un cDNA, mRNA o hnRNA, o en el que los polinucleótidos marcadores transcritos son cDNA, mRNA o hnRNA.

20. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 18 a 19, en el que el paso de detección comprende además la amplificación del polinucleótido transcrito o de los polinucleótidos transcritos.

5 21. El método de acuerdo con la reivindicación 20 en el que el paso de detección se realiza utilizando el método de la reacción en cadena de la polimerasa transcriptasa reversa cuantitativa.

10 22. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 18 a 21,

- en el que el nivel de expresión del gen marcador se valora mediante la detección de la presencia del polinucleótido marcador transcrito o el fragmento del mismo en una muestra, con una sonda que se aparea con el polinucleótido marcador transcrito o el fragmento del mismo en condiciones de hibridación severas, o

15 - en el que el nivel de expresión de la combinación de genes marcadores en las muestras se valora mediante la detección de la presencia de polinucleótidos marcadores transcritos o los fragmentos de los mismos en una muestra con sondas que se aparean con los polinucleótidos marcadores transcritos o los fragmentos de los mismos en condiciones de hibridación severas.

20 23. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 18 a 22

25 en el que la secuencia de ácido nucleico del polinucleótido marcador de la anfiregulina es la secuencia de ácido nucleico ID de SEC Núm. 5,

en el que la secuencia de ácido nucleico del polinucleótido marcador del factor de crecimiento epidérmico es la secuencia de ácido nucleico ID de SEC Núm. 6,

5 en el que la secuencia de ácido nucleico del polinucleótido marcador del factor de crecimiento transformante alfa es la secuencia de ácido nucleico ID de SEC Núm. 7, o

en el que la secuencia de ácido nucleico del polinucleótido marcador de HER2 es la secuencia de ácido nucleico ID de SEC Núm. 8.

10 24. La utilización de una sonda que hibrida con el marcador polinucleótido del factor de crecimiento epidérmico, del factor de crecimiento transformante alfa o de HER2 bajo condiciones severas o un anticuerpo que se une a la proteína marcadora del factor de crecimiento epidérmico,
15 del factor de crecimiento transformante alfa o de HER2 para predecir la respuesta al tratamiento con un inhibidor de la dimerización de HER en un paciente, o la utilización de una sonda que hibrida con el marcador polinucleótido de la anfiregulina, del factor de crecimiento epidérmico, del factor
20 de crecimiento transformante alfa o de HER2 bajo condiciones severas o un anticuerpo que se une a la proteína marcadora de la anfiregulina, del factor de crecimiento epidérmico, del factor de crecimiento transformante alfa o de HER2 para seleccionar una composición para inhibir la
25 progresión de la enfermedad en un paciente.

25. Un equipo que comprende una sonda que se aparee con el polinucleótido marcador de la anfiregulina, del factor de crecimiento epidérmico, del factor de crecimiento

transformante alfa o de HER2, bajo condiciones severas o un anticuerpo que se une a la proteína marcadora de la anfiregulina, del factor de crecimiento epidérmico, del factor de crecimiento transformante alfa o de HER2.

5 26. Un método para seleccionar una composición para inhibir la progresión de la enfermedad en un paciente, comprendiendo este método:

 a) exponer separadamente alícuotas de una muestra biológica de un paciente con cáncer en presencia de una pluralidad de composiciones de prueba;

10

 b) comparar el nivel de expresión de un gen marcador o una combinación de genes marcadores seleccionados de entre el grupo que consiste en el gen marcador de la anfiregulina, del factor de crecimiento epidérmico, del factor de crecimiento transformante alfa y de HER2, en las alícuotas de la muestra biológica en contacto con las composiciones de prueba y el nivel de expresión de un gen marcador o una combinación de genes marcadores seleccionados de entre el grupo que consiste en el gen marcador de la anfiregulina, del factor de crecimiento epidérmico, del factor de crecimiento transformante alfa y de HER2, en una alícuota de la muestra biológica que no se ha puesto en contacto con las composiciones de prueba,

15

20

 c) seleccionar una de las composiciones de prueba que altera el nivel de expresión del gen marcador o la combinación de genes marcadores en la alícuota que contiene esa composición de prueba, en relación con la alícuota que no se ha puesto en contacto con la composición de prueba, en

25

la que la indicación para la selección de la composición de prueba es una diferencia de al menos el 10% entre el nivel de expresión del gen marcador o la combinación de genes marcadores en la alícuota de la muestra biológica puesta en
5 contacto con la composición de prueba y el nivel de expresión del correspondiente gen marcador o combinación de genes marcadores en la alícuota de la muestra biológica que no se ha puesto en contacto con la composición de prueba.

27. Un método para la derivación de un agente candidato,
10 to, comprendiendo dicho método:

a) poner en contacto una alícuota de una muestra biológica de un paciente con cáncer con el agente candidato y determinar el nivel de expresión de un gen marcador o una combinación de genes marcadores seleccionados de entre el
15 grupo que consiste en el gen marcador de la anfiregulina, del factor de crecimiento epidérmico, del factor de crecimiento transformante alfa y de HER2 en la alícuota,

b) determinar el nivel de expresión de un gen marcador correspondiente o de una combinación de genes marcadores correspondientes en una alícuota de la muestra biológica
20 que no se ha puesto en contacto con el agente candidato,

c) observar el efecto del agente candidato mediante la comparación del nivel de expresión del gen marcador o combinación del genes marcadores en la alícuota de la muestra
25 biológica que se ha puesto en contacto con el agente candidato y el nivel de expresión del gen marcador correspondiente o la combinación de genes marcadores correspondien-

tes en la alícuota de la muestra biológica que no se ha puesto en contacto con el agente candidato,

5 d) derivar dicho agente de dicho efecto observado, en el que es una indicación de un efecto del agente candidato una diferencia de al menos el 10% entre el nivel de expresión del gen marcador o la combinación de genes marcadores en la alícuota de la muestra biológica puesta en contacto con el agente candidato y el nivel de expresión del correspondiente gen marcador o combinación de genes marcadores en
10 la alícuota de la muestra biológica que no se ha puesto en contacto con el agente candidato.

28. El método de acuerdo con la reivindicación 27 en el que dicho agente candidato es un agente candidato inhibitorio.

15 29. El método de acuerdo con la reivindicación 27 en el que dicho agente candidato es un agente candidato potenciador.

30. Un agente candidato derivado mediante el método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 27 a 29.

20 31. Una preparación farmacéutica que comprende un agente de acuerdo con la reivindicación 30.

32. El uso de un agente de acuerdo con la reivindicación 30 para la preparación de una composición para el tratamiento del cáncer.

25 33. Un método para producir un fármaco que comprende los pasos del método de cualquiera de las reivindicaciones 27 a 29; y

- i) sintetizar el agente candidato identificado en el paso (c) o un análogo o derivado del mismo en una cantidad suficiente para proporcionar dicho fármaco en una cantidad terapéuticamente efectiva a un sujeto; y / o
- 5 ii) combinar el fármaco candidato, el agente candidato identificado en el paso (c), o un análogo o derivado del mismo con un transportador farmacéuticamente aceptable.

34. El uso de una proteína marcadora o un polinucleótido marcador seleccionado de entre un grupo que consiste
10 en la proteína marcadora o polinucleótido marcador de la anfiregulina, del factor de crecimiento epidérmico, del factor de crecimiento transformante alfa y de HER2 para derivar un agente candidato o para seleccionar una composición para inhibir la progresión de una enfermedad en un pa-
15 ciente.

35. El uso de un inhibidor de la dimerización de HER para la elaboración de un medicamento para tratar un pa-
ciente humano con cáncer, que se caracteriza por que dicho tratamiento incluye la valoración en una muestra biológica
20 del paciente de

- un gen marcador o una combinación de genes marcadores seleccionados de entre el grupo que consiste en un gen marcador de factor de crecimiento epidérmico, del factor de crecimiento transformante alfa y de HER2 o
- 25 - una combinación de los genes marcadores que comprende un gen marcador de anfiregulina y un gen marcador seleccionado de entre un gen marcador del factor de crecimiento epidérmico, del factor de crecimiento

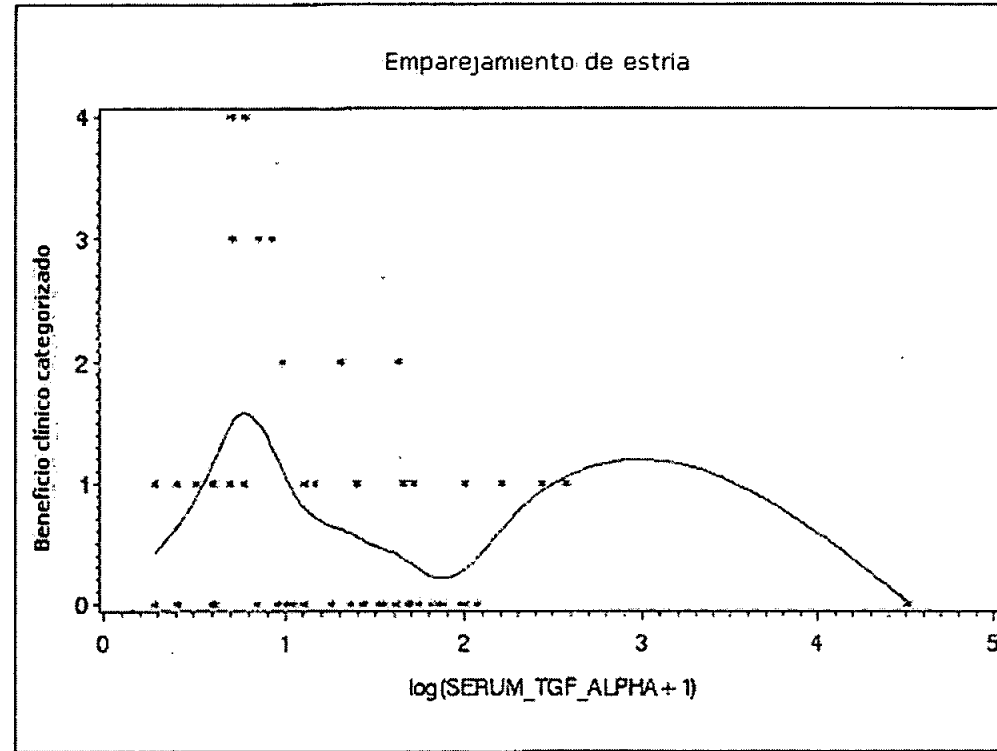
transformante alfa y de HER2.

36. El uso de acuerdo con la reivindicación 35 en el que el tratamiento incluye la valoración del gen marcador o la combinación de genes marcadores al menos una vez o repetidamente a lo largo del tratamiento.

37. El uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 35 a 36, en el que se valora el nivel de expresión del gen marcador o el nivel de expresión de la combinación de genes marcadores.

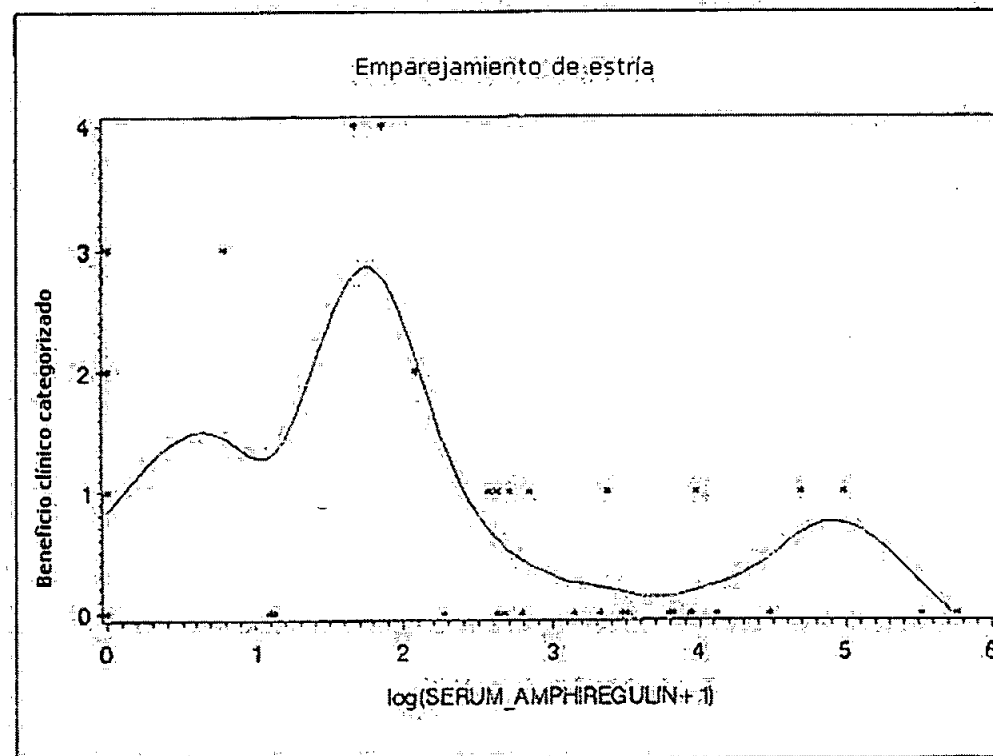
38. El uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 35 a 37, en el que el inhibidor de dimerización de HER es un anticuerpo, preferiblemente el anticuerpo 2C4.

39. El uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 35 a 38 en el que el paciente es un paciente con cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer de pulmón o cáncer de próstata.



Beneficio clínico categorizado:
 4- respuesta parcial
 3- enfermedad estable $\geq$ 6 meses
 2- enfermedad estable de 4 a 6 meses
 1- enfermedad estable $<$ 4 semanas
 0- enfermedad progresiva rápida

Fig. 1



Beneficio clínico categorizado :
 4- respuesta parcial
 3- enfermedad estable $\geq$ 6 meses
 2- enfermedad estable de 4 a 6 meses
 1- enfermedad estable $<$ 4 semanas
 0- enfermedad progresiva rápida

Fig. 2

Categoria	SERUM_TG		total
	F_ALPHA<3.5	F_ALPHA>=3.5	
0	14	14	28- enfermedad progresiva rápida
1	11	6	17- enfermedad estable <4 meses
2	2	1	3- enfermedad estable de 4 a 6 meses
3	3	0	3-enfermedad estable >= 6 meses
4	2	0	2-respuesta parcial
Total	32	21	53

Fig. 3

Categoría	SERUM LAM PHIREGUL IN<12	SERUM LAM PHIREGUL IN>=12
0	13	15
1	9	8
2	3	0
3	3	0
4	2	0
Total	30	23

Total

28- enfermedad progresiva rápida

17- enfermedad estable <4 meses

3- enfermedad estable de 4 a 6 meses

3- enfermedad estable >= 6 meses

2- respuesta parcial

53

Fig. 4

Categoría	SERUM_LEG F<150	SERUM_LEG F>=150	Total
0	10	18	28- enfermedad progresiva rápida
1	8	9	17- enfermedad estable <4 meses
2	2	1	3- enfermedad estable de 4 a 6 meses
3	1	2	3-enfermedad estable >= 6 meses
4	0	2	2-respuesta parcial
Total	21	32	53

Fig. 5

Categoría	HER2P _Δ EC ID<18	HER2P _Δ EC ID>=18	Total
0	27	17	28- enfermedad progresiva rápida
1	20	4	17- enfermedad estable <4 meses
2	3	1	3- enfermedad estable de 4 a 6 meses
3	4	0	3- enfermedad estable >= 6 meses
4	2	0	2- respuesta parcial
Total	56	22	78

Fig. 6

143

Marcador en suero	Corte de marcador explorador para grupo con mayor beneficio en TTP y/o TDD	Tiempo a progresión (TTP)		Tiempo a muerte (TTD)	
		Número de eventos para TTP/N Total	TTP P log-rank	Número de eventos para TTP/N Total	TTD P log-rank
TGF-alfa	< 3.5 pg/ml	50/53	0.058	11/53	0.000
Anfiregulina	< 12 pg/ml	50/53	0.030	11/53	0.000
EGF	< 150 pg/ml	50/53	0.85	11/53	0.000
Her2-ECD	< 18 ng/ml	71/78	0.014	33/78	0.000

Fig. 7

151

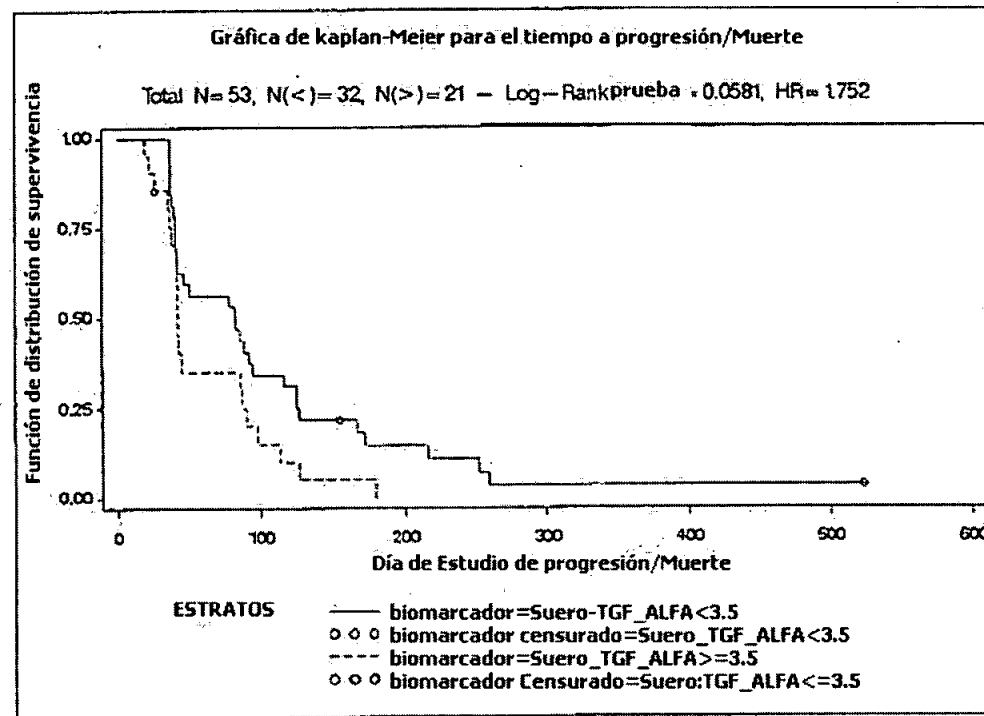


Fig. 8

145

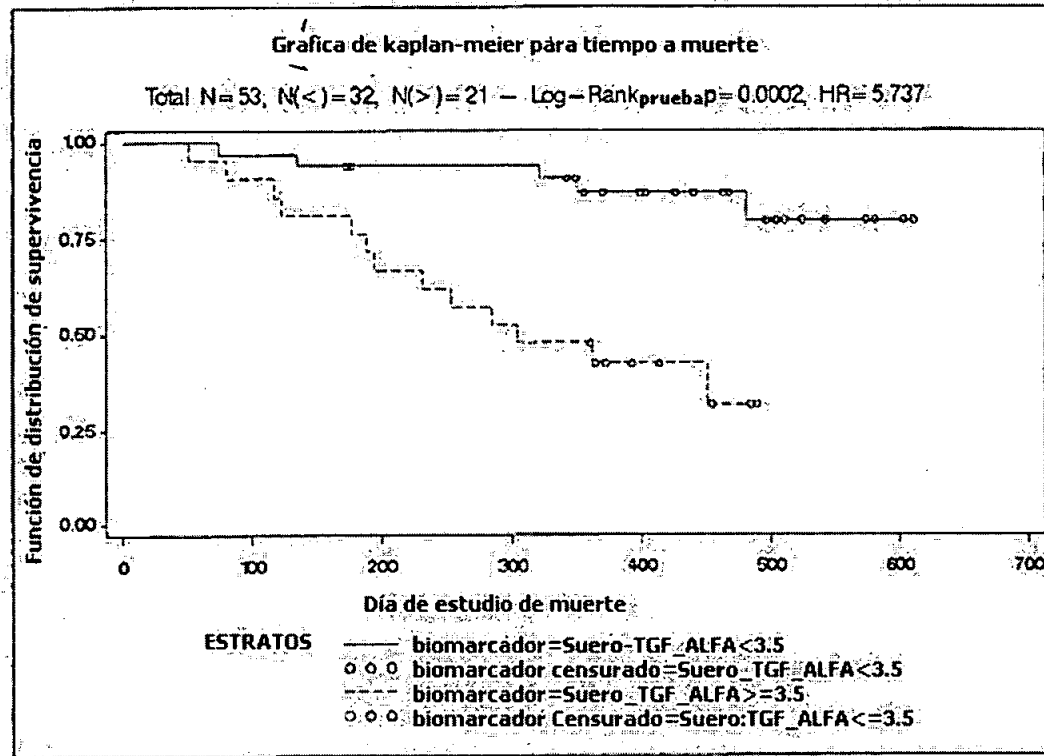


Fig. 9

1246

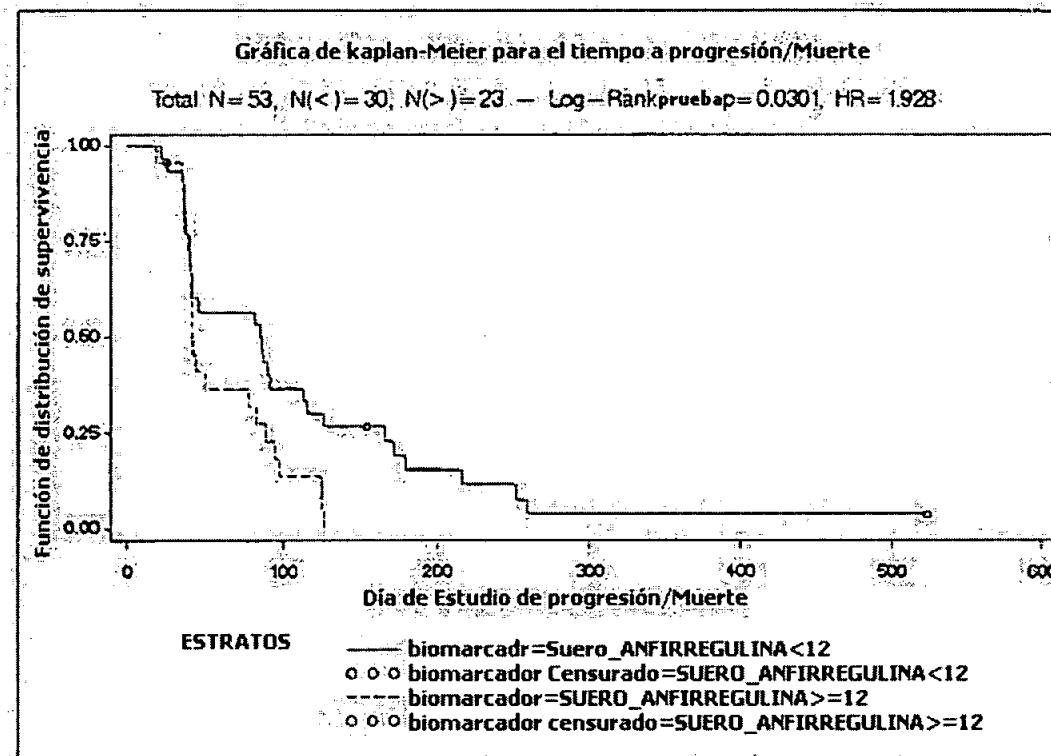


Fig. 10

147

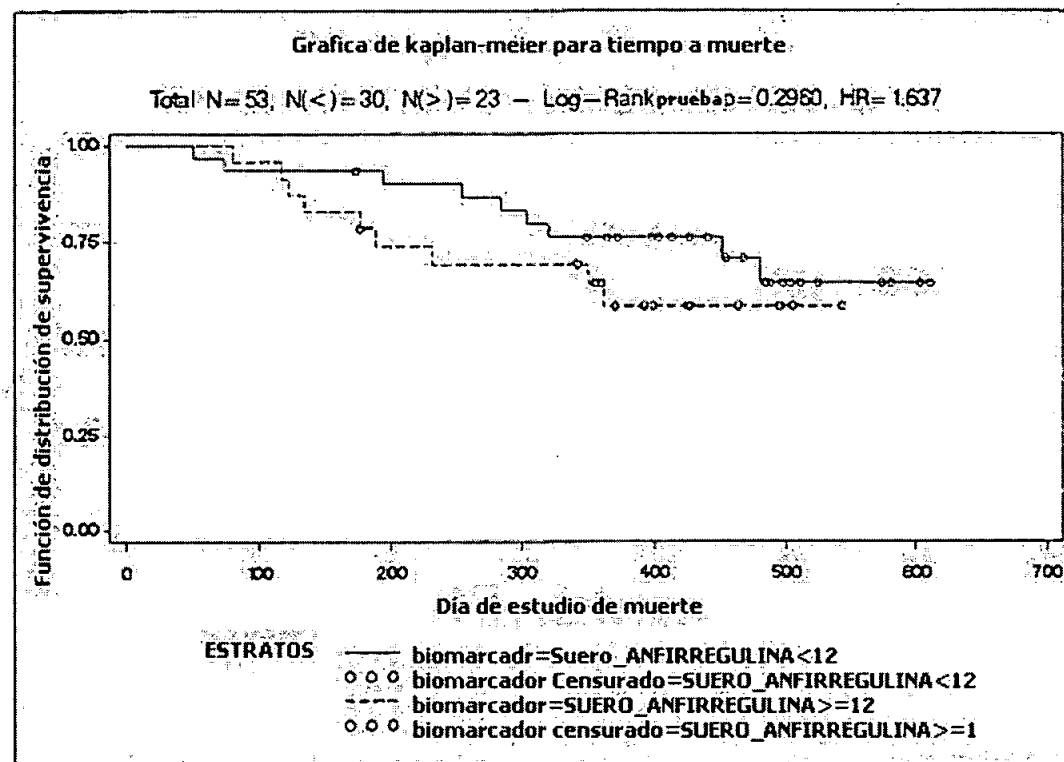


Fig. 11

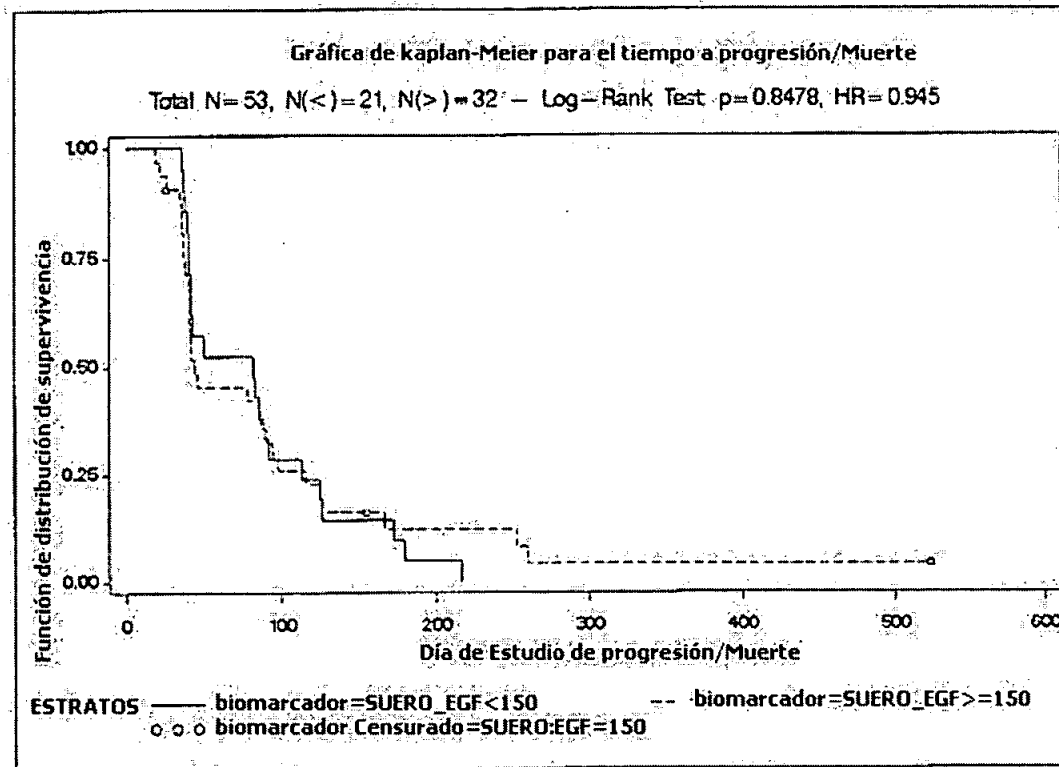


Fig. 12

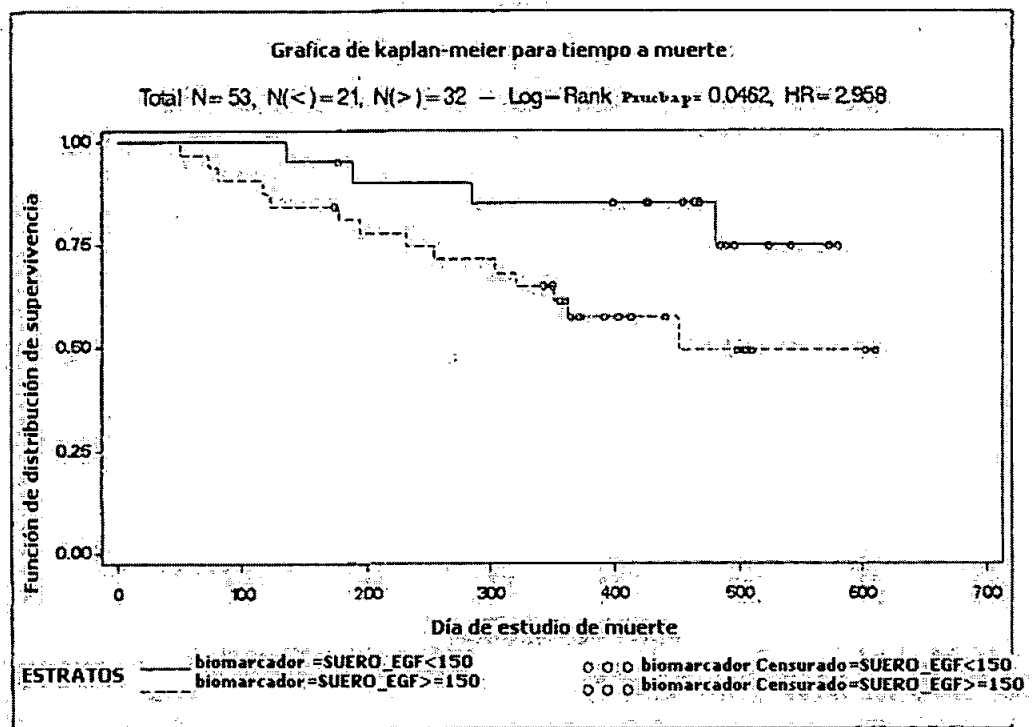


Fig. 13

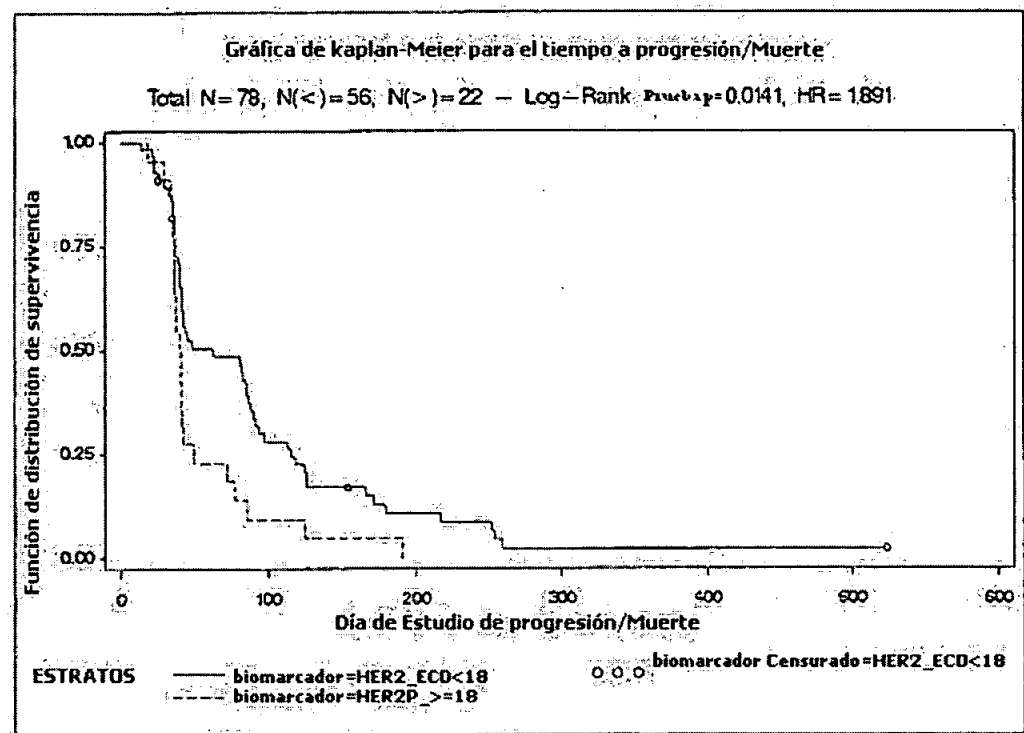


Fig. 14

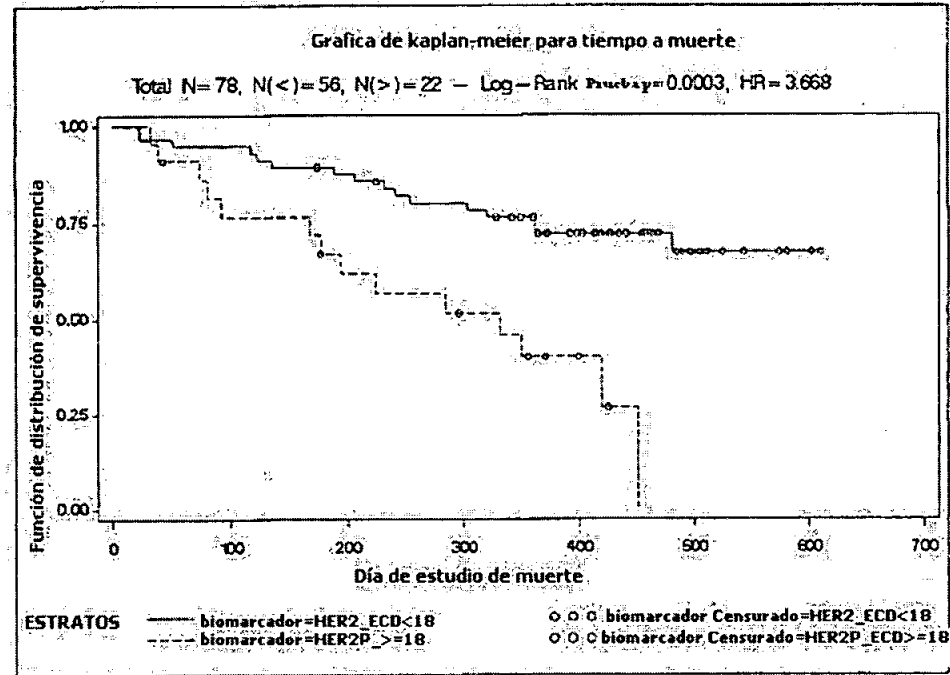


Fig. 15

Categoría	HER2<18 and TGFA <2.4	HER2>=18 or TGFA >=2.4	Total
0	7	29	28- enfermedad progresiva rápida
1	8	10	17- enfermedad estable <4 meses
2	1	3	3- enfermedad estable de 4 a 6 meses
3	3	0	3- enfermedad estable >= 6 meses
4	2	0	2- respuesta parcial
Total	21	42	63

Fig. 16

		Tiempo a progresión (TTP)		Tiempo a muerte (TTD)	
Marcador en suero	Corte de marcador explorador para grupo con mayor beneficio en TTP y/o TDD	Número de eventos para TTP/N Total	TTP P log-rank	Número de eventos para TTP/N Total	TTP P log-rank
Puntaje del cambio Her2-ECD/TGF-alfa	< 18ng/ml HER2 ECD y/o < 2.4 pg/ml TGF-	60/63	0.0014		

Fig. 17

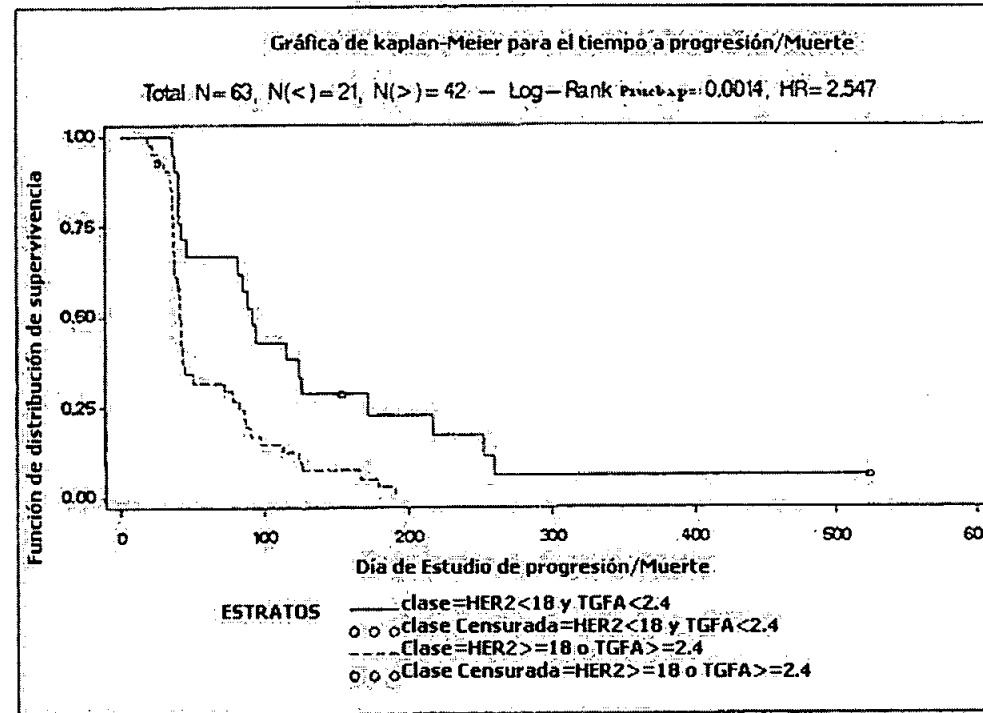


Fig. 18

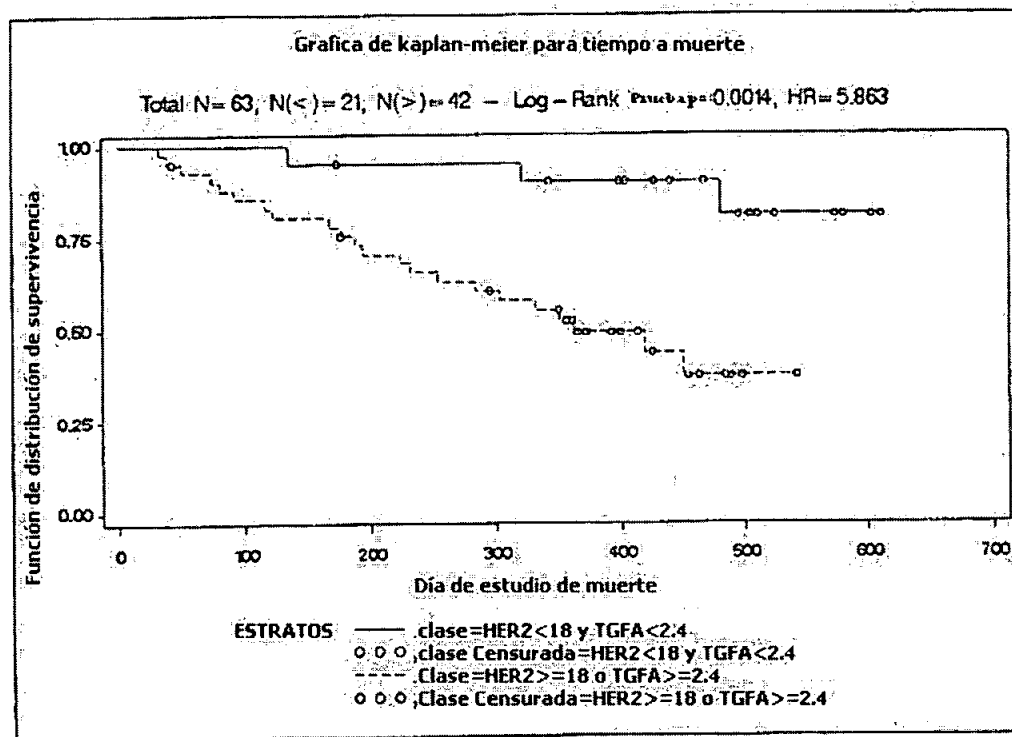


Fig. 19

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> F. Hoffmann-La Roche AG

<120> Método para la predicción de la respuesta a un
tratamiento

<130> 23220

<150> EP05017663.5

<151> 2005-08-12

<160> 14

<170> PatentIn versión 3.2

<210> 1

<211> 252

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Met Arg Ala Pro Leu Leu Pro Pro Ala Pro Val Val Leu Ser Leu Leu

1 5 10 15

Ile Leu Gly Ser Gly His Tyr Ala Ala Gly Leu Asp Leu Asn Asp Thr

20 25 30

Tyr Ser Gly Lys Arg Glu Pro Phe Ser Gly Asp His Ser Ala Asp Gly

35 40 45

Phe Glu Val Thr Ser Arg Ser Glu Met Ser Ser Gly Ser Glu Ile Ser

50 55 60

Pro Val Ser Glu Met Pro Ser Ser Ser Glu Pro Ser Ser Gly Ala Asp

65 70 75 80

Tyr Asp Tyr Ser Glu Glu Tyr Asp Asn Glu Pro Gln Ile Pro Gly Tyr

85 90 95

Ile Val Asp Asp Ser Val Arg Val Glu Gln Val Val Lys Pro Pro Gln

100 105 110

Asn Lys Thr Glu Ser Glu Asn Thr Ser Asp Lys Pro Lys Arg Lys Lys
115 120 125
Lys Gly Gly Lys Asn Gly Lys Asn Arg Arg Asn Arg Lys Lys Lys Asn
130 135 140
Pro Cys Asn Ala Glu Phe Gln Asn Phe Cys Ile His Gly Glu Cys Lys
145 150 155 160
Tyr Ile Glu His Leu Glu Ala Val Thr Cys Lys Cys Gln Gln Glu Tyr
165 170 175
Phe Gly Glu Arg Cys Gly Glu Lys Ser Met Lys Thr His Ser Met Ile
180 185 190
Asp Ser Ser Leu Ser Lys Ile Ala Leu Ala Ala Ile Ala Ala Phe Met
195 200 205
Ser Ala Val Ile Leu Thr Ala Val Ala Val Ile Thr Val Gln Leu Arg
210 215 220
Arg Gln Tyr Val Arg Lys Tyr Glu Gly Glu Ala Glu Glu Arg Lys Lys
225 230 235 240
Leu Arg Gln Glu Asn Gly Asn Val His Ala Ile Ala
245 250

<210> 2
<211> 1207
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 2

Met Leu Leu Thr Leu Ile Ile Leu Leu Pro Val Val Ser Lys Phe Ser
1 5 10 15
Phe Val Ser Leu Ser Ala Pro Gln His Trp Ser Cys Pro Glu Gly Thr
20 25 30

Leu Ala Gly Asn Gly Asn Ser Thr Cys Val Gly Pro Ala Pro Phe Leu
35 40 45
Ile Phe Ser His Gly Asn Ser Ile Phe Arg Ile Asp Thr Glu Gly Thr
50 55 60
Asn Tyr Glu Gln Leu Val Val Asp Ala Gly Val Ser Val Ile Met Asp
65 70 75 80
Phe His Tyr Asn Glu Lys Arg Ile Tyr Trp Val Asp Leu Glu Arg Gln
85 90 95
Leu Leu Gln Arg Val Phe Leu Asn Gly Ser Arg Gln Glu Arg Val Cys
100 105 110
Asn Ile Glu Lys Asn Val Ser Gly Met Ala Ile Asn Trp Ile Asn Glu
115 120 125
Glu Val Ile Trp Ser Asn Gln Gln Glu Gly Ile Ile Thr Val Thr Asp
130 135 140
Met Lys Gly Asn Asn Ser His Ile Leu Leu Ser Ala Leu Lys Tyr Pro
145 150 155 160
Ala Asn Val Ala Val Asp Pro Val Glu Arg Phe Ile Phe Trp Ser Ser
165 170 175
Glu Val Ala Gly Ser Leu Tyr Arg Ala Asp Leu Asp Gly Val Gly Val
180 185 190
Lys Ala Leu Leu Glu Thr Ser Glu Lys Ile Thr Ala Val Ser Leu Asp
195 200 205
Val Leu Asp Lys Arg Leu Phe Trp Ile Gln Tyr Asn Arg Glu Gly Ser
210 215 220
Asn Ser Leu Ile Cys Ser Cys Asp Tyr Asp Gly Gly Ser Val His Ile
225 230 235 240
Ser Lys His Pro Thr Gln His Asn Leu Phe Ala Met Ser Leu Phe Gly
245 250 255

Asp Arg Ile Phe Tyr Ser Thr Trp Lys Met Lys Thr Ile Trp Ile Ala
260 265 270
Asn Lys His Thr Gly Lys Asp Met Val Arg Ile Asn Leu His Ser Ser
275 280 285
Phe Val Pro Leu Gly Glu Leu Lys Val Val His Pro Leu Ala Gln Pro
290 295 300
Lys Ala Glu Asp Asp Thr Trp Glu Pro Glu Gln Lys Leu Cys Lys Leu
305 310 315 320
Arg Lys Gly Asn Cys Ser Ser Thr Val Cys Gly Gln Asp Leu Gln Ser
325 330 335
His Leu Cys Met Cys Ala Glu Gly Tyr Ala Leu Ser Arg Asp Arg Lys
340 345 350
Tyr Cys Glu Asp Val Asn Glu Cys Ala Phe Trp Asn His Gly Cys Thr
355 360 365
Leu Gly Cys Lys Asn Thr Pro Gly Ser Tyr Tyr Cys Thr Cys Pro Val
370 375 380
Gly Phe Val Leu Leu Pro Asp Gly Lys Arg Cys His Gln Leu Val Ser
385 390 395 400
Cys Pro Arg Asn Val Ser Glu Cys Ser His Asp Cys Val Leu Thr Ser
405 410 415
Glu Gly Pro Leu Cys Phe Cys Pro Glu Gly Ser Val Leu Glu Arg Asp
420 425 430
Gly Lys Thr Cys Ser Gly Cys Ser Ser Pro Asp Asn Gly Gly Cys Ser
435 440 445
Gln Leu Cys Val Pro Leu Ser Pro Val Ser Trp Glu Cys Asp Cys Phe
450 455 460
Pro Gly Tyr Asp Leu Gln Leu Asp Glu Lys Ser Cys Ala Ala Ser Gly
465 470 475 480

161

- 5 -

Pro Gln Pro Phe Leu Leu Phe Ala Asn Ser Gln Asp Ile Arg His Met
485 490 495

His Phe Asp Gly Thr Asp Tyr Gly Thr Leu Leu Ser Gln Gln Met Gly
500 505 510

Met Val Tyr Ala Leu Asp His Asp Pro Val Glu Asn Lys Ile Tyr Phe
515 520 525

Ala His Thr Ala Leu Lys Trp Ile Glu Arg Ala Asn Met Asp Gly Ser
530 535 540

Gln Arg Glu Arg Leu Ile Glu Glu Gly Val Asp Val Pro Glu Gly Leu
545 550 555 560

Ala Val Asp Trp Ile Gly Arg Arg Phe Tyr Trp Thr Asp Arg Gly Lys
565 570 575

Ser Leu Ile Gly Arg Ser Asp Leu Asn Gly Lys Arg Ser Lys Ile Ile
580 585 590

Thr Lys Glu Asn Ile Ser Gln Pro Arg Gly Ile Ala Val His Pro Met
595 600 605

Ala Lys Arg Leu Phe Trp Thr Asp Thr Gly Ile Asn Pro Arg Ile Glu
610 615 620

Ser Ser Ser Leu Gln Gly Leu Gly Arg Leu Val Ile Ala Ser Ser Asp
625 630 635 640

Leu Ile Trp Pro Ser Gly Ile Thr Ile Asp Phe Leu Thr Asp Lys Leu
645 650 655

Tyr Trp Cys Asp Ala Lys Gln Ser Val Ile Glu Met Ala Asn Leu Asp
660 665 670

Gly Ser Lys Arg Arg Arg Leu Thr Gln Asn Asp Val Gly His Pro Phe
675 680 685

Ala Val Ala Val Phe Glu Asp Tyr Val Trp Phe Ser Asp Trp Ala Met
690 695 700

162

Pro Ser Val Ile Arg Val Asn Lys Arg Thr Gly Lys Asp Arg Val Arg
705 710 715 720
Leu Gln Gly Ser Met Leu Lys Pro Ser Ser Leu Val Val Val His Pro
725 730 735
Leu Ala Lys Pro Gly Ala Asp Pro Cys Leu Tyr Gln Asn Gly Gly Cys
740 745 750
Glu His Ile Cys Lys Lys Arg Leu Gly Thr Ala Trp Cys Ser Cys Arg
755 760 765
Glu Gly Phe Met Lys Ala Ser Asp Gly Lys Thr Cys Leu Ala Leu Asp
770 775 780
Gly His Gln Leu Leu Ala Gly Gly Glu Val Asp Leu Lys Asn Gln Val
785 790 795 800
Thr Pro Leu Asp Ile Leu Ser Lys Thr Arg Val Ser Glu Asp Asn Ile
805 810 815
Thr Glu Ser Gln His Met Leu Val Ala Glu Ile Met Val Ser Asp Gln
820 825 830
Asp Asp Cys Ala Pro Val Gly Cys Ser Met Tyr Ala Arg Cys Ile Ser
835 840 845
Glu Gly Glu Asp Ala Thr Cys Gln Cys Leu Lys Gly Phe Ala Gly Asp
850 855 860
Gly Lys Leu Cys Ser Asp Ile Asp Glu Cys Glu Met Gly Val Pro Val
865 870 875 880
Cys Pro Pro Ala Ser Ser Lys Cys Ile Asn Thr Glu Gly Gly Tyr Val
885 890 895
Cys Arg Cys Ser Glu Gly Tyr Gln Gly Asp Gly Ile His Cys Leu Asp
900 905 910
Ile Asp Glu Cys Gln Leu Gly Val His Ser Cys Gly Glu Asn Ala Ser
915 920 925

Cys Thr Asn Thr Glu Gly Gly Tyr Thr Cys Met Cys Ala Gly Arg Leu
930 935 940
Ser Glu Pro Gly Leu Ile Cys Pro Asp Ser Thr Pro Pro Pro His Leu
945 950 955 960
Arg Glu Asp Asp His His Tyr Ser Val Arg Asn Ser Asp Ser Glu Cys
965 970 975
Pro Leu Ser His Asp Gly Tyr Cys Leu His Asp Gly Val Cys Met Tyr
980 985 990
Ile Glu Ala Leu Asp Lys Tyr Ala Cys Asn Cys Val Val Gly Tyr Ile
995 1000 1005
Gly Glu Arg Cys Gln Tyr Arg Asp Leu Lys Trp Trp Glu Leu Arg
1010 1015 1020
His Ala Gly His Gly Gln Gln Gln Lys Val Ile Val Val Ala Val
1025 1030 1035
Cys Val Val Val Leu Val Met Leu Leu Leu Leu Ser Leu Trp Gly
1040 1045 1050
Ala His Tyr Tyr Arg Thr Gln Lys Leu Leu Ser Lys Asn Pro Lys
1055 1060 1065
Asn Pro Tyr Glu Glu Ser Ser Arg Asp Val Arg Ser Arg Arg Pro
1070 1075 1080
Ala Asp Thr Glu Asp Gly Met Ser Ser Cys Pro Gln Pro Trp Phe
1085 1090 1095
Val Val Ile Lys Glu His Gln Asp Leu Lys Asn Gly Gly Gln Pro
1100 1105 1110
Val Ala Gly Glu Asp Gly Gln Ala Ala Asp Gly Ser Met Gln Pro
1115 1120 1125
Thr Ser Trp Arg Gln Glu Pro Gln Leu Cys Gly Met Gly Thr Glu
1130 1135 1140

Gln Gly Cys Trp Ile Pro Val Ser Ser Asp Lys Gly Ser Cys Pro
1145 1150 1155
Gln Val Met Glu Arg Ser Phe His Met Pro Ser Tyr Gly Thr Gln
1160 1165 1170
Thr Leu Glu Gly Gly Val Glu Lys Pro His Ser Leu Leu Ser Ala
1175 1180 1185
Asn Pro Leu Trp Gln Gln Arg Ala Leu Asp Pro Pro His Gln Met
1190 1195 1200
Glu Leu Thr Gln
1205
<210> 3
<211> 160
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 3
Met Val Pro Ser Ala Gly Gln Leu Ala Leu Phe Ala Leu Gly Ile Val
1 5 10 15
Leu Ala Ala Cys Gln Ala Leu Glu Asn Ser Thr Ser Pro Leu Ser Ala
20 25 30
Asp Pro Pro Val Ala Ala Ala Val Val Ser His Phe Asn Asp Cys Pro
35 40 45
Asp Ser His Thr Gln Phe Cys Phe His Gly Thr Cys Arg Phe Leu Val
50 55 60
Gln Glu Asp Lys Pro Ala Cys Val Cys His Ser Gly Tyr Val Gly Ala
65 70 75 80
Arg Cys Glu His Ala Asp Leu Leu Ala Val Val Ala Ala Ser Gln Lys
85 90 95

Lys Gln Ala Ile Thr Ala Leu Val Val Val Ser Ile Val Ala Leu Ala
100 105 110
Val Leu Ile Ile Thr Cys Val Leu Ile His Cys Cys Gln Val Arg Lys
115 120 125
His Cys Glu Trp Cys Arg Ala Leu Ile Cys Arg His Glu Lys Pro Ser
130 135 140
Ala Leu Leu Lys Gly Arg Thr Ala Cys Cys His Ser Glu Thr Val Val
145 150 155 160
<210> 4
<211> 1255
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 4
Met Glu Leu Ala Ala Leu Cys Arg Trp Gly Leu Leu Leu Ala Leu Leu
1 5 10 15
Pro Pro Gly Ala Ala Ser Thr Gln Val Cys Thr Gly Thr Asp Met Lys
20 25 30
Leu Arg Leu Pro Ala Ser Pro Glu Thr His Leu Asp Met Leu Arg His
35 40 45
Leu Tyr Gln Gly Cys Gln Val Val Gln Gly Asn Leu Glu Leu Thr Tyr
50 55 60
Leu Pro Thr Asn Ala Ser Leu Ser Phe Leu Gln Asp Ile Gln Glu Val
65 70 75 80
Gln Gly Tyr Val Leu Ile Ala His Asn Gln Val Arg Gln Val Pro Leu
85 90 95
Gln Arg Leu Arg Ile Val Arg Gly Thr Gln Leu Phe Glu Asp Asn Tyr
100 105 110

166

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

173

167

Pro Cys Ala Arg Val Cys Tyr Gly Leu Gly Met Glu His Leu Arg Glu
340 345 350
Val Arg Ala Val Thr Ser Ala Asn Ile Gln Glu Phe Ala Gly Cys Lys
355 360 365
Lys Ile Phe Gly Ser Leu Ala Phe Leu Pro Glu Ser Phe Asp Gly Asp
370 375 380
Pro Ala Ser Asn Thr Ala Pro Leu Gln Pro Glu Gln Leu Gln Val Phe
385 390 395 400
Glu Thr Leu Glu Glu Ile Thr Gly Tyr Leu Tyr Ile Ser Ala Trp Pro
405 410 415
Asp Ser Leu Pro Asp Leu Ser Val Phe Gln Asn Leu Gln Val Ile Arg
420 425 430
Gly Arg Ile Leu His Asn Gly Ala Tyr Ser Leu Thr Leu Gln Gly Leu
435 440 445
Gly Ile Ser Trp Leu Gly Leu Arg Ser Leu Arg Glu Leu Gly Ser Gly
450 455 460
Leu Ala Leu Ile His His Asn Thr His Leu Cys Phe Val His Thr Val
465 470 475 480
Pro Trp Asp Gln Leu Phe Arg Asn Pro His Gln Ala Leu Leu His Thr
485 490 495
Ala Asn Arg Pro Glu Asp Glu Cys Val Gly Glu Gly Leu Ala Cys His
500 505 510
Gln Leu Cys Ala Arg Gly His Cys Trp Gly Pro Gly Pro Thr Gln Cys
515 520 525
Val Asn Cys Ser Gln Phe Leu Arg Gly Gln Glu Cys Val Glu Glu Cys
530 535 540
Arg Val Leu Gln Gly Leu Pro Arg Glu Tyr Val Asn Ala Arg His Cys
545 550 555 560

167

Leu Pro Cys His Pro Glu Cys Gln Pro Gln Asn Gly Ser Val Thr Cys
565 570 575

Phe Gly Pro Glu Ala Asp Gln Cys Val Ala Cys Ala His Tyr Lys Asp
580 585 590

Pro Pro Phe Cys Val Ala Arg Cys Pro Ser Gly Val Lys Pro Asp Leu
595 600 605

Ser Tyr Met Pro Ile Trp Lys Phe Pro Asp Glu Glu Gly Ala Cys Gln
610 615 620

Pro Cys Pro Ile Asn Cys Thr His Ser Cys Val Asp Leu Asp Asp Lys
625 630 635 640

Gly Cys Pro Ala Glu Gln Arg Ala Ser Pro Leu Thr Ser Ile Ile Ser
645 650 655

Ala Val Val Gly Ile Leu Leu Val Val Val Leu Gly Val Val Phe Gly
660 665 670

Ile Leu Ile Lys Arg Arg Gln Gln Lys Ile Arg Lys Tyr Thr Met Arg
675 680 685

Arg Leu Leu Gln Glu Thr Glu Leu Val Glu Pro Leu Thr Pro Ser Gly
690 695 700

Ala Met Pro Asn Gln Ala Gln Met Arg Ile Leu Lys Glu Thr Glu Leu
705 710 715 720

Arg Lys Val Lys Val Leu Gly Ser Gly Ala Phe Gly Thr Val Tyr Lys
725 730 735

Gly Ile Trp Ile Pro Asp Gly Glu Asn Val Lys Ile Pro Val Ala Ile
740 745 750

Lys Val Leu Arg Glu Asn Thr Ser Pro Lys Ala Asn Lys Glu Ile Leu
755 760 765

Asp Glu Ala Tyr Val Met Ala Gly Val Gly Ser Pro Tyr Val Ser Arg
770 775 780

Leu Leu Gly Ile Cys Leu Thr Ser Thr Val Gln Leu Val Thr Gln Leu
785 790 795 800
Met Pro Tyr Gly Cys Leu Leu Asp His Val Arg Glu Asn Arg Gly Arg
 805 810 815
Leu Gly Ser Gln Asp Leu Leu Asn Trp Cys Met Gln Ile Ala Lys Gly
 820 825 830
Met Ser Tyr Leu Glu Asp Val Arg Leu Val His Arg Asp Leu Ala Ala
 835 840 845
Arg Asn Val Leu Val Lys Ser Pro Asn His Val Lys Ile Thr Asp Phe
 850 855 860
Gly Leu Ala Arg Leu Leu Asp Ile Asp Glu Thr Glu Tyr His Ala Asp
865 870 875 880
Gly Gly Lys Val Pro Ile Lys Trp Met Ala Leu Glu Ser Ile Leu Arg
 885 890 895
Arg Arg Phe Thr His Gln Ser Asp Val Trp Ser Tyr Gly Val Thr Val
 900 905 910
Trp Glu Leu Met Thr Phe Gly Ala Lys Pro Tyr Asp Gly Ile Pro Ala
 915 920 925
Arg Glu Ile Pro Asp Leu Leu Glu Lys Gly Glu Arg Leu Pro Gln Pro
 930 935 940
Pro Ile Cys Thr Ile Asp Val Tyr Met Ile Met Val Lys Cys Trp Met
945 950 955 960
Ile Asp Ser Glu Cys Arg Pro Arg Phe Arg Glu Leu Val Ser Glu Phe
 965 970 975
Ser Arg Met Ala Arg Asp Pro Gln Arg Phe Val Val Ile Gln Asn Glu
 980 985 990
Asp Leu Gly Pro Ala Ser Pro Leu Asp Ser Thr Phe Tyr Arg Ser Leu
 995 1000 1005

Leu Glu	Asp Asp Asp Met Gly	Asp Leu Val Asp Ala	Glu Glu Tyr
1010	1015	1020	
Leu Val	Pro Gln Gln Gly Phe	Phe Cys Pro Asp Pro	Ala Pro Gly
1025	1030	1035	
Ala Gly	Gly Met Val His His	Arg His Arg Ser Ser	Ser Thr Arg
1040	1045	1050	
Ser Gly	Gly Gly Asp Leu Thr	Leu Gly Leu Glu Pro	Ser Glu Glu
1055	1060	1065	
Glu Ala	Pro Arg Ser Pro Leu	Ala Pro Ser Glu Gly	Ala Gly Ser
1070	1075	1080	
Asp Val	Phe Asp Gly Asp Leu	Gly Met Gly Ala Ala	Lys Gly Leu
1085	1090	1095	
Gln Ser	Leu Pro Thr His Asp	Pro Ser Pro Leu Gln	Arg Tyr Ser
1100	1105	1110	
Glu Asp	Pro Thr Val Pro Leu	Pro Ser Glu Thr Asp	Gly Tyr Val
1115	1120	1125	
Ala Pro	Leu Thr Cys Ser Pro	Gln Pro Glu Tyr Val	Asn Gln Pro
1130	1135	1140	
Asp Val	Arg Pro Gln Pro Pro	Ser Pro Arg Glu Gly	Pro Leu Pro
1145	1150	1155	
Ala Ala	Arg Pro Ala Gly Ala	Thr Leu Glu Arg Pro	Lys Thr Leu
1160	1165	1170	
Ser Pro	Gly Lys Asn Gly Val	Val Lys Asp Val Phe	Ala Phe Gly
1175	1180	1185	
Gly Ala	Val Glu Asn Pro Glu	Tyr Leu Thr Pro Gln	Gly Gly Ala
1190	1195	1200	
Ala Pro	Gln Pro His Pro Pro	Pro Ala Phe Ser Pro	Ala Phe Asp
1205	1210	1215	

Asn Leu Tyr Tyr Trp Asp Gln Asp Pro Pro Glu Arg Gly Ala Pro

1220 1225 1230

Pro Ser Thr Phe Lys Gly Thr Pro Thr Ala Glu Asn Pro Glu Tyr

1235 1240 1245

Leu Gly Leu Asp Val Pro Val

1250 1255

- <210> 5
- <211> 1270
- <212> DNA
- <213> Homo sapiens
- <400> 5

agacgttcgc acacctgggt gccagcgccc cagaggtccc gggacagccc gaggcgccgc	60
gcccgcgcc cccagctccc caagccttcg agagcggcgc acactcccgg tctccactcg	120
cttttccaac acccgctcgt tttggcggca gctcgtgtcc cagagaccga gttgccccag	180
agaccgagac gccgccgctg cgaaggacca atgagagccc cgctgctacc gccggcgccg	240
gtggtgctgt cgctcttgat actcggctca ggccattatg ctgctggatt ggacctcaat	300
gacacctact ctgggaagcg tgaaccattt tctggggacc acagtgctga tggatttgag	360
gttacctcaa gaagtgagat gtcttcaggg agtgagattt cccctgtgag tgaaatgcct	420
tctagtagtg aaccgtcctc gggagccgac tatgactact cagaagagta tgataacgaa	480
ccacaaatac ctggctatat tgtcgatgat tcagtcagag ttgaacaggt agttaagccc	540
ccccaaaaca agacggaaaag tgaaaatact tcagataaac caaaagaaa gaaaaagga	600
ggcaaaaatg gaaaaaatag aagaaacaga aagaagaaaa atccatgtaa tgcagaattt	660
caaaatttct gcattcacgg agaatgcaaa tatatagagc acctggaagc agtaacatgc	720
aaatgtcagc aagaatattt cgggtgaacgg tgtggggaaa agtccatgaa aactcacagc	780
atgattgaca gtagtttatc aaaaattgca ttagcagcca tagctgcctt tatgtctgct	840
gtgatcctca cagctgttgc tgttattaca gtccagctta gaagacaata cgtcaggaaa	900
tatgaaggag aagctgagga acgaaagaaa cttcgacaag agaatggaaa tgtacatgct	960
atagcataac tgaagataaa attacaggat atcacattgg agtcactgcc aagtcatagc	1020

cataaatgat gagtcgggcc tctttccagt ggatcataag acaatggacc ctttttggtta 1080
tgatgggttt aaactttcaa ttgtcacttt ttatgctatt tctgtatata aagggtgcacg 1140
aaggtaaaaa gtattttttc aagttgtaaa taattttattt aatatttaaat ggaagtgtat 1200
ttattttaca gctcattaaa cttttttaac caaacagaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1260
aaaaaaaaaa 1270

<210> 6
<211> 4877
<212> DNA
<213> Homo sapiens
<400> 6

actgttggga gaggaatcgt atctccatat ttcttctttc agccccaatc caaggggtgt 60
agctggaact ttccatcagt tcttcctttc tttttcctct ctaagccttt gccttgcctc 120
gtcacagtga agtcagccag agcagggctg ttaaactctg tgaaatttgt cataaggggtg 180
tcaggtattt cttactggct tccaaagaaa catagataaa gaaatctttc ctgtggcttc 240
ccttggcagg ctgcattcag aaggtctctc agttgaagaa agagcttgga ggacaacagc 300
acaacaggag agtaaaagat gccccagggc tgaggcctcc gctcaggcag ccgcactctgg 360
ggccaatcat actcaccttg cccggggccat gtcacagcaa aatcaagctg ttttcttttg 420
aaagttcaaa ctcatcaaga ttatgctgct cactcttctc attctgttgc cagtagtttc 480
aaaatttagt tttgttagtc tctcagcacc gcagcactgg agctgtcctg aaggtactct 540
cgcaggaaat gggaattcta cttgtgtggg tctgcacccc ttcttaattt tctcccatgg 600
aaatagtatc tttaggattg acacagaagg aaccaattat gagcaattgg tgggtggatgc 660
tgggtgtctca gtgatcatgg attttcatta taatgagaaa agaactctatt ggggtggattt 720
agaaagacaa cttttgcaaa gagtttttct gaatgggtca aggcaagaga gagtatgtaa 780
tatagagaaa aatgtttctg gaatggcaat aaattggata aatgaagaag ttatttggtc 840
aatcaacag gaaggaatca ttacagtaac agatatgaaa ggaaataatt cccacattct 900
tttaagtgtc ttaaaatctc ctgcaaagt agcagttgat ccagtagaaa gggtttatatt 960
ttgggtcttca gaggtggctg gaagccttta tagagcagat ctcgatgggtg tgggagtgaa 1020
ggctctgttg gagacatcag agaaaataac agctgtgtca ttggatgtgc ttgataagcg 1080

gctgttttgg attcagtaca acagagaagg aagcaattct cttatttgct cctgtgatta 1140
tgatggaggt tctgtccaca ttagtaaaca tccaacacag cataatttgt ttgcaatgtc 1200
cctttttggg gaccgtatct tctattcaac atggaaaatg aagacaattt ggatagccaa 1260
caaacacact ggaaaggaca tggttagaat taacctccat tcatcatttg taccacttgg 1320
tgaactgaaa gtagtgcac cacttgcaca acccaaggca gaagatgaca cttgggagcc 1380
tgagcagaaa ctttgcaaat tgaggaaagg aaactgcagc agcactgtgt gtgggcaaga 1440
cctccagtca cacttgtgca tgtgtgcaga gggatacgcc ctaagtcgag accggaagta 1500
ctgtgaagat gttaatgaat gtgctttttg gaatcatggc tgtactcttg ggtgtaaaaa 1560
cacccttggg tcctattact gcacgtgccc tgtaggattt gttctgcttc ctgatgggaa 1620
acgatgtcat caacttgttt cctgtccacg caatgtgtct gaatgcagcc atgactgtgt 1680
tctgacatca gaaggtcctt tatgtttctg tcctgaaggc tcagtgtctg agagagatgg 1740
gaaaacatgt agcggttgtt cctcaccoga taatgggtga tgtagccagc tctgcgttcc 1800
tcttagccca gtatcctggg aatgtgattg ctttcctggg tatgacctac aactggatga 1860
aaaaagctgt gcagcttcag gaccacaacc atttttgctg tttgccaatt ctcaagatat 1920
tcgacacatg ctttttgatg gaacagacta tggaactctg ctcagccagc agatgggaat 1980
ggtttatgcc ctagatcatg accctgtgga aaataagata tactttgccc atacagccct 2040
gaagtggata gagagagcta atatggatgg ttcccagcga gaaaggctta ttgaggaagg 2100
agtagatgtg ccagaaggtc ttgctgtgga ctggattggc cgtagattct attggacaga 2160
cagagggaaa tctctgattg gaaggagtga tttaaattggg aaacgttcca aaataatcac 2220
taaggagaac atctctcaac cacgaggaat tgctgttcat ccaatggcca agagattatt 2280
ctggactgat acagggatta atccacgaat tgaaagttct tccctccaag gccttggccg 2340
tctggttata gccagctctg atctaactctg gcccagtgga ataacgattg acttcttaac 2400
tgacaagttg tactggtgcg atgccaagca gtctgtgatt gaaatggcca atctggatgg 2460
ttcaaaacgc cgaagactta ccagaaatga tgtaggtcac ccatttgctg tagcagtgtt 2520
tgaggattat gtgtggttct cagattgggc tatgccatca gtaataagag taaacaagag 2580
gactggcaaa gatagagtac gtctccaagg cagcatgctg aagccctcat cactggttgt 2640
ggttcatcca ttggcaaaac caggagcaga tccttgctta tatcaaaacg gaggctgtga 2700
acatatattgc aaaaagaggc ttggaactgc ttggtgttcg tgtcgtgaag gttttatgaa 2760

agcctcagat gggaaaacgt gtctggctct ggatggtcac cagctgttgg caggtgggtga 2820
agttgatcta aagaaccaag taacaccatt ggacatcttg tccaagacta gagtgtcaga 2880
agataacatt acagaatctc aacacatgct agtggctgaa atcatgggtg cagatcaaga 2940
tgactgtgct cctgtgggat gcagcatgta tgctcgggtg atttcagagg gagaggatgc 3000
cacatgtcag tgtttgaaag gatttgctgg ggatggaaaa ctatgttctg atatagatga 3060
atgtgagatg ggtgtcccag tgtgcccccc tgcctcctcc aagtgcacac acaccgaagg 3120
tggttatgtc tgccgggtgct cagaaggcta ccaaggagat gggattcact gtcttgatat 3180
tgatgagtgc caactggggg tgcacagctg tggagagaat gccagctgca caaatacaga 3240
gggaggctat acctgcatgt gtgctggacg cctgtctgaa ccaggactga tttgccctga 3300
ctctactcca cccctcacc tcagggaaga tgaccaccac tattccgtaa gaaatagtga 3360
ctctgaatgt cccctgtccc acgatgggta ctgcctccat gatgggtgtg gcatgtatat 3420
tgaagcattg gacaagtatg catgcaactg tgttggtggc tacatcgggg agcgaatgca 3480
gtaccgagac ctgaagtggg gggaaactgc ccacgctggc caccgggcagc agcagaagggt 3540
catcgtgggtg gctgtctgcg tgggtgggtg tgtcatgctg ctctcctga gcctgtgggg 3600
ggccccactac tacaggactc agaagctgct atcgaaaaac ccaaagaatc cttatgagga 3660
gtcgagcaga gatgtgagga gtgcagggcc tgcagacact gaggatggga tgcctcttg 3720
ccctcaacct tggtttgtgg ttataaaaga acaccaagac ctcaagaatg ggggtcaacc 3780
agtggctggg gaggatggcc aggcagcaga tgggtcaatg caaccaactt catggaggca 3840
ggagccccag ttatgtggaa tgggcacaga gcaaggctgc tggattccag tatccagtga 3900
taagggtctc tgtccccagg taatggagcg aagctttcat atgccctcct atgggacaca 3960
gacccttgaa ggggggtgtc agaagcccca ttctctcta tcagctaacc cattatggca 4020
acaaagggcc ctggaccac cacaccaa at ggagctgact cagtgaaaac tggaattaaa 4080
aggaaagtca agaagaatga actatgtcga tgcacagtat cttttctttc aaaagtagag 4140
caaaactata ggttttggtt ccacaatctc tacgactaat cacctactca atgcctggag 4200
acagatacgt agttgtgctt ttgtttgtc ttttaagcag tctcactgca gtcttatctc 4260
caagtaagag tactgggaga atcactaggt aacttattag aaacccaaat tgggacaaca 4320
gtgctttgta aattgtgttg tottcagcag tcaatacaaa tagatTTTTTg tttttgttgt 4380
tcctgcagcc ccagaagaaa ttaggggtta aagcagacag tcacactggg ttgggtcagtt 4440

acaaagtaat ttctttgatc tggacagaac atttatatca gtttcatgaa atgattggaa 4500
tattacaata ccgttaagat acagtgtagg catttaactc ctcatggcg tggccatgc 4560
tgatgatttt gccaaaatga gttgtgatga atcaatgaaa aatgtaattt agaaactgat 4620
ttcttcagaa ttagatggcc ttatTTTTTA aaatatTTGA atgaaaacat tttatTTTTA 4680
aaatattaca caggaggcct teggagtttc ttagtcatta ctgtcctttt cccctacaga 4740
attttccctc ttggtgtgat tgcacagaat ttgtatgtat tttcagttac aagattgtaa 4800
gtaaattgcc tgatttgttt tcattataga caacgatgaa tttcttctaa ttattttaaT 4860
aaaatcacca aaaacat 4877

<210> 7
<211> 4119
<212> DNA
<213> Homo sapiens
<400> 7

ctggagagcc tgctgcccgc ccgccgtaa aatggTcccc tgggctggac agctcgccct 60
gttcgctctg ggtatttgtt tggctgcgtg ccaggccttg gagaacagca cgtccccgct 120
gagtgcagac ccgccgtgg ctgcagcagt ggtgtcccat tttaatgact gcccagattc 180
ccacactcag ttctgcttcc atggaacctg caggTTTTtg gtgcaggagg acaagccagc 240
atgtgtctgc cattctgggt acgttgggtg acgtgtgag catgcggaac tcctggccgt 300
ggTggctgcc agccagaaga agcaggccat caccgccttg gtggTggtct ccacgtggc 360
cctggctgtc cttatcatca catgtgtgct gatacactgc tgccaggTcc gaaaacactg 420
tgagtggTgc cgggccctca tctgccggca cgagaagccc agcgccctcc tgaagggaaG 480
aaccgcttgc tgccactcag aaacagtggT ctgaagagcc cagaggagga gtttggccag 540
gtggactgtg gcagatcaat aaagaaaggc ttcttcagga cagcactgcc agagatgcct 600
gggtgtgcca cagaccttcc tacttggcct gtaatcacct gtgcagcctt ttgtgggcct 660
tcaaaactct gtcaagaact ccgtctgctt ggggttattc agtgtgacct agagaagaaa 720
tcagcggacc acgatttcaa gacttgTtaa aaaagaactg caaagagacg gactcctgtt 780
cacctaggTg aggtgtgtgc agcagttggT gtctgagTcc acatgtgtgc agttgtcttc 840
tgccagccat ggattccagg ctatatattt ctttttaatg ggccacctcc ccacaacaga 900

attctgcccc acacaggaga tttctatagt tattgttttc tgtcatttgc ctactgggga 960
agaaagtga ggaggggaaa ctgtttaata tcacatgaag accctagctt taagagaagc 1020
tgtatcctct aaccacgaga ctctcaacca gccaacatc ttccatggac acatgacatt 1080
gaagaccatc ccaagctatc gccacccttg gagatgatgt cttattttatt agatggataa 1140
tggtttttatt tttaatctct taagtcaatg taaaaagtat aaaaccctt cagacttcta 1200
cattaatgat gtatgtgttg ctgactgaaa agctatactg attagaaatg tctggcctct 1260
tcaagacagc taaggcttgg gaaaagtctt ccagggtgcg gagatggaac cagaggctgg 1320
gttactggta ggaataaagg taggggttca gaaatggtgc cattgaagcc acaaagccgg 1380
taaagtgcctc aatacgttct gggagaaaaac ttagcaaatc catcagcagg gatctgtccc 1440
ctctgttggg gagagaggaa gagtgtgtgt gtctacacag gataaaccca atacatattg 1500
tactgtctcag tgattaaatg ggttcacttc ctctgtgagc ctcggttaagt atgtttagaa 1560
atagaacatt agccacgagc cataggcatt tcaggccaaa tccatgaaag ggggaccagt 1620
cattttatttt ccattttgtt gcttgggttg tttgttgctt tattttttaa aggagaagtt 1680
taactttgct atttattttc gagcactagg aaaactattc cagtaatttt ttttctctca 1740
tttccattca ggatgccggc tttattaaca aaaactctaa caagtcacct ccactatgtg 1800
ggctcttctt tccctcaag agaaggagca attgttcccc tgacatctgg gtccatctga 1860
cccatggggc ctgcctgtga gaaacagtgg gtcccttcaa atacatagtg gatagctcat 1920
ccctaggaat tttcattaaa atttggaaac agagtaatga agaaataata tataaactcc 1980
ttatgtgagg aaatgctact aatatctgaa aagtgaaga tttctatgta ttaactctta 2040
agtgcaccta gcttattaca tctgaaagg tacattttaa atatgtttaa ttggcttgaa 2100
attttcagag aattttgtct tcccctaatt cttcttctt ggtctggaag aacaatttct 2160
atgaattttc tctttatttt ttttttataa ttcagacaat tctatgacct gtgtcttcat 2220
ttttggcact cttatttaac aatgccacac ctgaagcact tggatctgtt cagagctgac 2280
cccctagcaa cgtagttgac acagctccag gtttttaaata tactaaaata agttcaagtt 2340
tacatccctt gggccagata tgtgggttga ggcttgactg tagcatcctg cttagagacc 2400
aatcaatgga cactggtttt tagacctcta tcaatcagta gttagcatcc aagagacttt 2460
gcagagggct aggaatgagg ctggacagat ggcggaacga gaggttcctt gcgaagactt 2520
gagatttagt gtctgtgaat gttctagttc ctaggtccag caagtcacac ctgccagtgc 2580

cctcatcctt atgcctgtaa cacacatgca gtgagaggcc tcacatatac gcctccctag 2640
aagtgccttc caagtcagtc ctttggaac cagcaggctc gaaaaagagg ctgcatcaat 2700
gcaagcctgg ttggaccatt gtccatgcct caggatagaa cagcctggct tatttgggga 2760
tttttcttct agaaatcaaa tgactgataa gcattggctc cctctgccat ttaatggcaa 2820
tggtagtctt tggtagctg caaaaatact ccatttcaag ttaaaaatgc atcttctaata 2880
ccatctctgc aagctccctg tgtttccttg ccctttagaa aatgaattgt tcactacaat 2940
tagagaatca tttaacatcc tgacctggta agctgccaca cacctggcag tggggagcat 3000
cgctgtttcc aatggctcag gagacaatga aaagccccc tttaaaaaaa taacaaacat 3060
tttttaaaag gcctccaata ctcttatgga gcctggatth ttcccactgc tctacaggct 3120
gtgacttttt ttaagcatcc tgacaggaaa tgttttcttc tacatggaaa gatagacagc 3180
agccaacct gatctggaag acagggcccc ggctggacac acgtggaacc aagccaggga 3240
tgggctggcc attgtgtccc cgcaggagag atgggcagaa tggccctaga gttcttttcc 3300
ctgagaaagg agaaaaagat gggattgcca ctcaccacc cacactggta agggaggaga 3360
atttgtgctt ctggagcttc tcaagggatt gtgttttgca ggtacagaaa actgcctgtt 3420
atcttcaagc cagggtttctg agggcacatg ggtcaccagt tgctttttca gtcaatttgg 3480
ccgggatgga ctaatgaggc tctaactctg ctcaggagac ccctgccctc tagttggttc 3540
tgggctttga tctcttccaa cctgcccagt cacagaagga ggaatgactc aaatgcccac 3600
aaccaagaac acattgcaga agtaagacaa acatgtatat ttttaaatgt tctaacataa 3660
gacctgttct ctctagccat tgatttacca ggctttctga aagatctagt ggttcacaca 3720
gagagagaga gagtactgaa aaagcaactc ctcttcttag tcttaataat ttactaaaat 3780
ggtcaacttt tcattatctt tattataata aacctgatgc ttttttttag aactccttac 3840
tctgatgtct gtatatgttg cactgaaaag gttaatatth aatgttttaa tttattttgt 3900
gtggttaagtt aattttgatt tctgtaatgt gttaatgtga ttagcagtta ttttccttaa 3960
tatctgaatt atacttaaag agtagtgagc aatataagac gcaattgtgt ttttcagtaa 4020
tgtgcattgt tattgagttg tactgtacct tatttggaag gatgaaggaa tgaacctttt 4080
tttcctaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4119

<210> 8

<211> 4624

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 8

ggaggaggtg gaggaggagg gctgcttgag gaagtataag aatgaagttg tgaagctgag	60
attccccctcc attgggaccg gagaaaccag gggagcccc cgggcagccg cgcgccccctt	120
cccacggggc cctttactgc gccgcgcgcc cgccccccac ccctcgcagc accccgcgcc	180
ccgcgccttc ccagccgggt ccagccggag ccatggggcc ggagccgcag tgagcaccat	240
ggagctggcg gccttggtcc gctgggggct cctcctcgcc ctcttgcccc ccggagccgc	300
gagcacccaa gtgtgcaccg gcacagacat gaagctgcgg ctccctgccg gtcccagagc	360
ccacctggac atgctccgcc acctctacca gggctgccag gtggtgcagg gaaacctgga	420
actcacctac ctgcccacca atgccagcct gtccttctctg caggatatcc aggaggtgca	480
gggctacgtg ctcatcgctc acaaccaagt gaggcaggtc cactgcaga ggctgcggat	540
tgtgcgaggc acccagctct ttgaggacaa ctatgccttg gccgtgctag acaatggaga	600
cccgtgaac aataccaccc ctgtcacagg ggcctcccca ggaggcctgc gggagctgca	660
gcttcgaagc ctcacagaga tcttgaaagg aggggtcttg atccagcgga acccccagct	720
ctgctaccag gacacgattt tgtggaagga catcttcac aagaacaacc agctggctct	780
cacactgata gacaccaacc gctctcgggc ctgccacccc tgttctccga tgtgtaaggg	840
ctcccgtgc tggggagaga gttctgagga ttgtcagagc ctgacgcgca ctgtctgtgc	900
cggtggctgt gcccgctgca aggggccact gccactgac tgctgccatg agcagtgtgc	960
tgccggctgc acgggcccc agcactctga ctgcctggcc tgcctccact tcaaccacag	1020
tggcatctgt gagctgcact gccagccct ggtcacctac aacacagaca cgtttgagtc	1080
catgcccatt cccgagggcc ggtatacatt cggcgccagc tgtgtgactg cctgtcccta	1140
caactacctt tctacggacg tgggatcctg caccctcgtc tgccccctgc acaaccaaga	1200
ggtgacagca gaggatggaa cacagcgggtg tgagaagtgc agcaagccct gtgcccagat	1260
gtgctatggt ctgggcatgg agcacttgcg agaggtaggg gcagttacca gtgccaatat	1320
ccaggagttt gctggctgca agaagatctt tgggagcctg gcatttctgc cggagagctt	1380
tgatggggac ccagcctcca aactgcccc gctccagcca gacagctcc aagtgtttga	1440
gactctggaa gagatcacag gttacctata catctcagca tggccggaca gcctgcctga	1500

cctcagcgtc ttccagaacc tgcaagtaat ccggggacga attctgcaca atggcgcccta 1560
 ctcgctgacc ctgcaagggc tgggcatcag ctggctgggg ctgcgctcac tgaggggaact 1620
 gggcagtgga ctggccctca tccaccataa caccacctc tgcttcgtgc acacgggtgcc 1680
 ctgggaccag ctctttcgga acccgcacca agctctgctc cactctgcca accggccaga 1740
 ggacgagtgt gtgggcgagg gcctggcctg ccaccagctg tgcgcccag ggcactgctg 1800
 ggggccaggg cccacccagt gtgtcaactg cagccagttc cttcggggcc aggagtgcgt 1860
 ggaggaatgc cgagtactgc aggggctccc caggagtagt gtgaatgcca ggcactgttt 1920
 gccgtgccac cctgagtgtc agccccagaa tggctcagtg acctgttttg gaccggaggc 1980
 tgaccagtgt gtggcctgtg cccactataa ggacctccc ttctgcgttg cccgctgccc 2040
 cagcgggtgtg aaacctgacc tctctacat gcccatctgg aagtttcag atgaggaggg 2100
 cgcattgccag ccttgcccca tcaactgcac cactcctgt gtggacctg atgacaaggg 2160
 ctgccccgcc gagcagagag ccagccctct gacgtccatc atctctgcgg tggttggcat 2220
 tctgctggtc gtggtcttgg ggggtggtct tgggatcctc atcaagcgac ggcagcagaa 2280
 gatccggaag tacacgatgc ggagactgct gcaggaaacg gagctggtgg agccgctgac 2340
 acctagcggg gcgatgccca accaggcgca gatgcggatc ctgaaagaga cggagctgag 2400
 gaaggatgaag gtgcttgat ctggcgcttt tggcacagtc tacaagggca tctggatccc 2460
 tgatggggag aatgtgaaaa ttccagtggc catcaaagtg ttgagggaaa acacatcccc 2520
 caaagccaac aaagaaatct tagacgaagc atacgtgatg gctggtgtgg gctccccata 2580
 tgtctccgc cttctgggca tctgcctgac atccacggtg cagctggtga cacagcttat 2640
 gccctatggc tgcctcttag accatgtccg ggaaaaccgc ggacgcctgg gctcccagga 2700
 cctgctgaac tgggtgatgc agattgccaa ggggatgagc tacctggagg atgtgcggct 2760
 cgtacacagg gacttggccg ctcggaacgt gctggtcaag agtcccaacc atgtcaaaat 2820
 tacagacttc gggctggctc ggctgctgga cattgacgag acagagtacc atgcagatgg 2880
 gggcaagggt cccatcaagt ggatggcgct ggagtccatt ctccgccggc ggttcaccca 2940
 ccagagtgat gtgtggagtt atggtgtgac tgtgtgggag ctgatgactt ttggggccaa 3000
 accttacgat gggatcccag cccgggagat ccctgacctg ctggaaaagg gggagcggct 3060
 gccccagccc cccatctgca ccattgatgt ctacatgatc atgggtcaaat gttggatgat 3120
 tgactctgaa tgtcggccaa gattccggga gttggtgtct gaattctccc gcatggccag 3180

ggacccccag cgctttgtgg tcatccagaa tgaggacttg ggcccagcca gtcccttgga 3240
cagcaccttc taccgctcac tgctggagga cgatgacatg ggggacctg tggatgctga 3300
ggagtatctg gtaccccagc agggcttctt ctgtccagac cctgccccgg gcgctggggg 3360
catggtccac cacaggcacc gcagctcatc taccaggagt ggcggtgggg acctgacact 3420
agggctggag ccctctgaag aggaggcccc caggtctcca ctggcacctt ccgaaggggc 3480
tggctccgat gtatttgatg gtgacctggg aatgggggca gccaaggggc tgcaaagcct 3540
ccccacacat gaccccagcc ctctacagcg gtacagttag gaccccacag tacccttgcc 3600
ctctgagact gatggctacg ttgccccctt gacctgcagc cccagcctg aatatgtgaa 3660
ccagccagat gttcggcccc agcccccttc gcccagagag ggccctctgc ctgctgcccc 3720
acctgctggt gccactctgg aaaggcccaa gactctctcc ccagggaaga atggggctgt 3780
caaagacgtt tttgcctttg ggggtgccgt ggagaacccc gagtacttga cccccaggg 3840
aggagctgcc cctcagcccc accctcctcc tgccttcagc ccagccttcg acaacctcta 3900
ttactgggac caggaccac cagagcgggg ggctccaccc agcaccttca aagggaacac 3960
tacggcagag aaccagagt acctgggtct ggacgtgcca gtgtgaacca gaaggccaag 4020
tccgcagaag ccctgatgtg tctcagggg gcaggggaagg cctgacttct gctggcatca 4080
agaggtggga gggccctccg accacttcca ggggaacctg ccatgccagg aacctgtcct 4140
aaggaacctt ccttctgtct tgagttccca gatggctgga aggggtccag cctcgttgga 4200
agaggaacag cactggggag tctttgtgga ttctgaggcc ctgccaatg agactctagg 4260
gtccagtgga tgccacagcc cagcttggcc ctttccttcc agatcctggg tactgaaagc 4320
cttagggaag ctggcctgag aggggaagcg gccctaaggg agtgtctaag aacaaaagcg 4380
accatttcag agactgtccc tgaaacctag tactgcccc catgaggaag gaacagcaat 4440
gggtgtcagta tccaggcttt gtacagagtg cttttctgtt tagtttttac tttttttgtt 4500
ttgttttttt aaagatgaaa taaagacca gggggagaat ggggtgttgta tggggaggga 4560
agtgtggggg gtccttctcc acaccactt tgtccatttg caaatatatt ttggaaaaca 4620
gcta 4624

- <210> 9
- <211> 183
- <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 9

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

<210> 10

<211> 1050

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 10

acacacacac acccctcccc tgccatccct ccccggaactc eggctccggc tccgattgca 60
atttgcaacc tccgctgccg tcgccgcagc agccaccaat tcgccagcgg ttcaggtggc 120
tcttgccctcg atgtcctagc ctagggggccc ccgggcccga cttggctggg ctcccttcac 180
cctctgcgga gtcattgaggc cgaacgacgc tctgcaggtg ctgggcttgc ttttcagcct 240
ggccccggggc tccgaggtgg gcaactctca ggcagtgtgt cctgggactc tgaatggcct 300
gagtgtgacc ggcgatgctg agaaccaata ccagacactg tacaagctct acgagaggtg 360
tgaggtgggtg atggggaacc ttgagattgt gctcacggga cacaatgccg acctctcctt 420
cctgcagtggt attcgagaag tgacaggcta tgtcctcgtg gccatgaatg aattctctac 480
tctaccattg cccaacctcc gcgtggtgcg agggaccagc gtctacgatg ggaagtttgc 540
catcttcgtc atgttgaact ataacaccaa ctccagccac gctctgcgcc agtccgctt 600
gactcagctc accggtcagt tcccgatggg tccttctggc ctcacccctc agccagccca 660
agactggtac ctcccttgatg atgaccaag actgctcact ctaagtgcct cttccaaggt 720
gcctgtcacc ttggccgctg tctaaaggtc cattgtctcc taagcaatag agggccccc 780
gtaggggggag ctaggggcat ctgctccagg gaaaggaacc ctgtgtcctt gtggggctgg 840
agtcagagct ggatctgtta accgtttttc taatttcaaa gtacagtgtg ccggaggcca 900
ggcctgatgg cttacacctg taatcccagc attttgggag gccaaaggagg gcagatcact 960
tgagatcagg agtttgagac cagcctggcc aacatggcga aaccctgtct ctactaaaaa 1020
tacaaaaaaa taaaataaaa taaaaaatta 1050

<210> 11

<211> 1210

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 11

Met Arg Pro Ser Gly Thr Ala Gly Ala Ala Leu Leu Ala Leu Leu Ala

1 5 10 15

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

Thr Gly Pro Arg Glu Ser Asp Cys Leu Val Cys Arg Lys Phe Arg Asp
245 250 255

Glu Ala Thr Cys Lys Asp Thr Cys Pro Pro Leu Met Leu Tyr Asn Pro
260 265 270

Thr Thr Tyr Gln Met Asp Val Asn Pro Glu Gly Lys Tyr Ser Phe Gly
275 280 285

Ala Thr Cys Val Lys Lys Cys Pro Arg Asn Tyr Val Val Thr Asp His
290 295 300

Gly Ser Cys Val Arg Ala Cys Gly Ala Asp Ser Tyr Glu Met Glu Glu
305 310 315 320

Asp Gly Val Arg Lys Cys Lys Lys Cys Glu Gly Pro Cys Arg Lys Val
325 330 335

Cys Asn Gly Ile Gly Ile Gly Glu Phe Lys Asp Ser Leu Ser Ile Asn
340 345 350

Ala Thr Asn Ile Lys His Phe Lys Asn Cys Thr Ser Ile Ser Gly Asp
355 360 365

Leu His Ile Leu Pro Val Ala Phe Arg Gly Asp Ser Phe Thr His Thr
370 375 380

Pro Pro Leu Asp Pro Gln Glu Leu Asp Ile Leu Lys Thr Val Lys Glu
385 390 395 400

Ile Thr Gly Phe Leu Leu Ile Gln Ala Trp Pro Glu Asn Arg Thr Asp
405 410 415

Leu His Ala Phe Glu Asn Leu Glu Ile Ile Arg Gly Arg Thr Lys Gln
420 425 430

His Gly Gln Phe Ser Leu Ala Val Val Ser Leu Asn Ile Thr Ser Leu
435 440 445

Gly Leu Arg Ser Leu Lys Glu Ile Ser Asp Gly Asp Val Ile Ile Ser
450 455 460

- 29 -

Gly	Asn	Lys	Asn	Leu	Cys	Tyr	Ala	Asn	Thr	Ile	Asn	Trp	Lys	Lys	Leu
465				470						475					480
Phe	Gly	Thr	Ser	Gly	Gln	Lys	Thr	Lys	Ile	Ile	Ser	Asn	Arg	Gly	Glu
				485						490					495
Asn	Ser	Cys	Lys	Ala	Thr	Gly	Gln	Val	Cys	His	Ala	Leu	Cys	Ser	Pro
			500						505					510	
Glu	Gly	Cys	Trp	Gly	Pro	Glu	Pro	Arg	Asp	Cys	Val	Ser	Cys	Arg	Asn
			515					520						525	
Val	Ser	Arg	Gly	Arg	Glu	Cys	Val	Asp	Lys	Cys	Asn	Leu	Leu	Glu	Gly
			530					535						540	
Glu	Pro	Arg	Glu	Phe	Val	Glu	Asn	Ser	Glu	Cys	Ile	Gln	Cys	His	Pro
545								550						555	560
Glu	Cys	Leu	Pro	Gln	Ala	Met	Asn	Ile	Thr	Cys	Thr	Gly	Arg	Gly	Pro
								565						570	575
Asp	Asn	Cys	Ile	Gln	Cys	Ala	His	Tyr	Ile	Asp	Gly	Pro	His	Cys	Val
								580						585	590
Lys	Thr	Cys	Pro	Ala	Gly	Val	Met	Gly	Glu	Asn	Asn	Thr	Leu	Val	Trp
								595						600	605
Lys	Tyr	Ala	Asp	Ala	Gly	His	Val	Cys	His	Leu	Cys	His	Pro	Asn	Cys
								610						615	620
Thr	Tyr	Gly	Cys	Thr	Gly	Pro	Gly	Leu	Glu	Gly	Cys	Pro	Thr	Asn	Gly
625								630						635	640
Pro	Lys	Ile	Pro	Ser	Ile	Ala	Thr	Gly	Met	Val	Gly	Ala	Leu	Leu	Leu
								645						650	655
Leu	Leu	Val	Val	Ala	Leu	Gly	Ile	Gly	Leu	Phe	Met	Arg	Arg	Arg	His
								660						665	670
Ile	Val	Arg	Lys	Arg	Thr	Leu	Arg	Arg	Leu	Leu	Gln	Glu	Arg	Glu	Leu
								675						680	685

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

Lys Pro Tyr Asp Gly Ile Pro Ala Ser Glu Ile Ser Ser Ile Leu Glu
915 920 925

Lys Gly Glu Arg Leu Pro Gln Pro Pro Ile Cys Thr Ile Asp Val Tyr
930 935 940

Met Ile Met Val Lys Cys Trp Met Ile Asp Ala Asp Ser Arg Pro Lys
945 950 955 960

Phe Arg Glu Leu Ile Ile Glu Phe Ser Lys Met Ala Arg Asp Pro Gln
965 970 975

Arg Tyr Leu Val Ile Gln Gly Asp Glu Arg Met His Leu Pro Ser Pro
980 985 990

Thr Asp Ser Asn Phe Tyr Arg Ala Leu Met Asp Glu Glu Asp Met Asp
995 1000 1005

Asp Val Val Asp Ala Asp Glu Tyr Leu Ile Pro Gln Gln Gly Phe
1010 1015 1020

Phe Ser Ser Pro Ser Thr Ser Arg Thr Pro Leu Leu Ser Ser Leu
1025 1030 1035

Ser Ala Thr Ser Asn Asn Ser Thr Val Ala Cys Ile Asp Arg Asn
1040 1045 1050

Gly Leu Gln Ser Cys Pro Ile Lys Glu Asp Ser Phe Leu Gln Arg
1055 1060 1065

Tyr Ser Ser Asp Pro Thr Gly Ala Leu Thr Glu Asp Ser Ile Asp
1070 1075 1080

Asp Thr Phe Leu Pro Val Pro Glu Tyr Ile Asn Gln Ser Val Pro
1085 1090 1095

Lys Arg Pro Ala Gly Ser Val Gln Asn Pro Val Tyr His Asn Gln
1100 1105 1110

Pro Leu Asn Pro Ala Pro Ser Arg Asp Pro His Tyr Gln Asp Pro
1115 1120 1125

His Ser Thr Ala Val Gly Asn Pro Glu Tyr Leu Asn Thr Val Gln
1130 1135 1140
Pro Thr Cys Val Asn Ser Thr Phe Asp Ser Pro Ala His Trp Ala
1145 1150 1155
Gln Lys Gly Ser His Gln Ile Ser Leu Asp Asn Pro Asp Tyr Gln
1160 1165 1170
Gln Asp Phe Phe Pro Lys Glu Ala Lys Pro Asn Gly Ile Phe Lys
1175 1180 1185
Gly Ser Thr Ala Glu Asn Ala Glu Tyr Leu Arg Val Ala Pro Gln
1190 1195 1200
Ser Ser Glu Phe Ile Gly Ala
1205 1210
<210> 12
<211> 628
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 12
Met Arg Pro Ser Gly Thr Ala Gly Ala Ala Leu Leu Ala Leu Leu Ala
1 5 10 15
Ala Leu Cys Pro Ala Ser Arg Ala Leu Glu Glu Lys Lys Val Cys Gln
20 25 30
Gly Thr Ser Asn Lys Leu Thr Gln Leu Gly Thr Phe Glu Asp His Phe
35 40 45
Leu Ser Leu Gln Arg Met Phe Asn Asn Cys Glu Val Val Leu Gly Asn
50 55 60
Leu Glu Ile Thr Tyr Val Gln Arg Asn Tyr Asp Leu Ser Phe Leu Lys
65 70 75 80

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

- 34 -

Gly	Ser	Cys	Val	Arg	Ala	Cys	Gly	Ala	Asp	Ser	Tyr	Glu	Met	Glu	Glu
305				310				315				320			
Asp	Gly	Val	Arg	Lys	Cys	Lys	Lys	Cys	Glu	Gly	Pro	Cys	Arg	Lys	Val
325				330				335							
Cys	Asn	Gly	Ile	Gly	Ile	Gly	Glu	Phe	Lys	Asp	Ser	Leu	Ser	Ile	Asn
340				345				350							
Ala	Thr	Asn	Ile	Lys	His	Phe	Lys	Asn	Cys	Thr	Ser	Ile	Ser	Gly	Asp
355				360				365							
Leu	His	Ile	Leu	Pro	Val	Ala	Phe	Arg	Gly	Asp	Ser	Phe	Thr	His	Thr
370				375				380							
Pro	Pro	Leu	Asp	Pro	Gln	Glu	Leu	Asp	Ile	Leu	Lys	Thr	Val	Lys	Glu
385				390				395				400			
Ile	Thr	Gly	Phe	Leu	Leu	Ile	Gln	Ala	Trp	Pro	Glu	Asn	Arg	Thr	Asp
405				410				415							
Leu	His	Ala	Phe	Glu	Asn	Leu	Glu	Ile	Ile	Arg	Gly	Arg	Thr	Lys	Gln
420				425				430							
His	Gly	Gln	Phe	Ser	Leu	Ala	Val	Val	Ser	Leu	Asn	Ile	Thr	Ser	Leu
435				440				445							
Gly	Leu	Arg	Ser	Leu	Lys	Glu	Ile	Ser	Asp	Gly	Asp	Val	Ile	Ile	Ser
450				455				460							
Gly	Asn	Lys	Asn	Leu	Cys	Tyr	Ala	Asn	Thr	Ile	Asn	Trp	Lys	Lys	Leu
465				470				475				480			
Phe	Gly	Thr	Ser	Gly	Gln	Lys	Thr	Lys	Ile	Ile	Ser	Asn	Arg	Gly	Glu
485				490				495							
Asn	Ser	Cys	Lys	Ala	Thr	Gly	Gln	Val	Cys	His	Ala	Leu	Cys	Ser	Pro
500				505				510							
Glu	Gly	Cys	Trp	Gly	Pro	Glu	Pro	Arg	Asp	Cys	Val	Ser	Cys	Arg	Asn
515				520				525							

Val Ser Arg Gly Arg Glu Cys Val Asp Lys Cys Asn Leu Leu Glu Gly
530 535 540
Glu Pro Arg Glu Phe Val Glu Asn Ser Glu Cys Ile Gln Cys His Pro
545 550 555 560
Glu Cys Leu Pro Gln Ala Met Asn Ile Thr Cys Thr Gly Arg Gly Pro
565 570 575
Asp Asn Cys Ile Gln Cys Ala His Tyr Ile Asp Gly Pro His Cys Val
580 585 590
Lys Thr Cys Pro Ala Gly Val Met Gly Glu Asn Asn Thr Leu Val Trp
595 600 605
Lys Tyr Ala Asp Ala Gly His Val Cys His Leu Cys His Pro Asn Cys
610 615 620
Thr Tyr Gly Ser
625
<210> 13
<211> 405
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 13
Met Arg Pro Ser Gly Thr Ala Gly Ala Ala Leu Leu Ala Leu Leu Ala
1 5 10 15
Ala Leu Cys Pro Ala Ser Arg Ala Leu Glu Glu Lys Lys Val Cys Gln
20 25 30
Gly Thr Ser Asn Lys Leu Thr Gln Leu Gly Thr Phe Glu Asp His Phe
35 40 45
Leu Ser Leu Gln Arg Met Phe Asn Asn Cys Glu Val Val Leu Gly Asn
50 55 60

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

Ala Thr Cys Val Lys Lys Cys Pro Arg Asn Tyr Val Val Thr Asp His
290 295 300
Gly Ser Cys Val Arg Ala Cys Gly Ala Asp Ser Tyr Glu Met Glu Glu
305 310 315 320
Asp Gly Val Arg Lys Cys Lys Lys Cys Glu Gly Pro Cys Arg Lys Val
325 330 335
Cys Asn Gly Ile Gly Ile Gly Glu Phe Lys Asp Ser Leu Ser Ile Asn
340 345 350
Ala Thr Asn Ile Lys His Phe Lys Asn Cys Thr Ser Ile Ser Gly Asp
355 360 365
Leu His Ile Leu Pro Val Ala Phe Arg Gly Asp Ser Phe Thr His Thr
370 375 380
Pro Pro Leu Asp Pro Gln Glu Leu Asp Ile Leu Lys Thr Val Lys Glu
385 390 395 400
Ile Thr Gly Leu Ser
405

<210> 14
<211> 705
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 14

Met Arg Pro Ser Gly Thr Ala Gly Ala Ala Leu Leu Ala Leu Leu Ala
1 5 10 15
Ala Leu Cys Pro Ala Ser Arg Ala Leu Glu Glu Lys Lys Val Cys Gln
20 25 30
Gly Thr Ser Asn Lys Leu Thr Gln Leu Gly Thr Phe Glu Asp His Phe
35 40 45

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

Thr Thr Tyr Gln Met Asp Val Asn Pro Glu Gly Lys Tyr Ser Phe Gly
275 280 285
Ala Thr Cys Val Lys Lys Cys Pro Arg Asn Tyr Val Val Thr Asp His
290 295 300
Gly Ser Cys Val Arg Ala Cys Gly Ala Asp Ser Tyr Glu Met Glu Glu
305 310 315 320
Asp Gly Val Arg Lys Cys Lys Lys Cys Glu Gly Pro Cys Arg Lys Val
325 330 335
Cys Asn Gly Ile Gly Ile Gly Glu Phe Lys Asp Ser Leu Ser Ile Asn
340 345 350
Ala Thr Asn Ile Lys His Phe Lys Asn Cys Thr Ser Ile Ser Gly Asp
355 360 365
Leu His Ile Leu Pro Val Ala Phe Arg Gly Asp Ser Phe Thr His Thr
370 375 380
Pro Pro Leu Asp Pro Gln Glu Leu Asp Ile Leu Lys Thr Val Lys Glu
385 390 395 400
Ile Thr Gly Phe Leu Leu Ile Gln Ala Trp Pro Glu Asn Arg Thr Asp
405 410 415
Leu His Ala Phe Glu Asn Leu Glu Ile Ile Arg Gly Arg Thr Lys Gln
420 425 430
His Gly Gln Phe Ser Leu Ala Val Val Ser Leu Asn Ile Thr Ser Leu
435 440 445
Gly Leu Arg Ser Leu Lys Glu Ile Ser Asp Gly Asp Val Ile Ile Ser
450 455 460
Gly Asn Lys Asn Leu Cys Tyr Ala Asn Thr Ile Asn Trp Lys Lys Leu
465 470 475 480
Phe Gly Thr Ser Gly Gln Lys Thr Lys Ile Ile Ser Asn Arg Gly Glu
485 490 495

Asn Ser Cys Lys Ala Thr Gly Gln Val Cys His Ala Leu Cys Ser Pro
500 505 510

Glu Gly Cys Trp Gly Pro Glu Pro Arg Asp Cys Val Ser Cys Arg Asn
515 520 525

Val Ser Arg Gly Arg Glu Cys Val Asp Lys Cys Asn Leu Leu Glu Gly
530 535 540

Glu Pro Arg Glu Phe Val Glu Asn Ser Glu Cys Ile Gln Cys His Pro
545 550 555 560

Glu Cys Leu Pro Gln Ala Met Asn Ile Thr Cys Thr Gly Arg Gly Pro
565 570 575

Asp Asn Cys Ile Gln Cys Ala His Tyr Ile Asp Gly Pro His Cys Val
580 585 590

Lys Thr Cys Pro Ala Gly Val Met Gly Glu Asn Asn Thr Leu Val Trp
595 600 605

Lys Tyr Ala Asp Ala Gly His Val Cys His Leu Cys His Pro Asn Cys
610 615 620

Thr Tyr Gly Pro Gly Asn Glu Ser Leu Lys Ala Met Leu Phe Cys Leu
625 630 635 640

Phe Lys Leu Ser Ser Cys Asn Gln Ser Asn Asp Gly Ser Val Ser His
645 650 655

Gln Ser Gly Ser Pro Ala Ala Gln Glu Ser Cys Leu Gly Trp Ile Pro
660 665 670

Ser Leu Leu Pro Ser Glu Phe Gln Leu Gly Trp Gly Gly Cys Ser His
675 680 685

Leu His Ala Trp Pro Ser Ala Ser Val Ile Ile Thr Ala Ser Ser Cys
690 695 700

His
705

TRADUCCION OFICIAL No. 2008-01-22-020
DE UN DOCUMENTO ESCRITO EN INGLES

Colombia

Caso 23220

Declaración

Yo, el suscrito Notario Público de Basilea/Suiza, por el presente declaro que la copia adjunta llamada 'Traspaso' es una copia fiel del documento original que me ha presentado

F. Hoffmann-La Roche AG

de Basilea, Suiza,

Basilea, Suiza, este día 15-06-2006 (día quince de junio de dos mil seis)

Sello notarial

(firma: Ilegible)

Leg. Prot. 2006 No. 302

Notario Público

Dr. Peter Kuster
Abogado y Notario
Peterskirchplatz 12
Postfach
CH-4001 Basilea

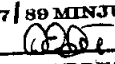
APOSTILLA

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

1. País: Suiza
- Este documento oficial
2. ha sido firmado por Dr. (ilegible) P. Kuster
3. actuando como Notario Oficial
4. lleva el sello/estampilla de (ilegible)

CERTIFICADO

5. en Basilea
6. el día 19 de junio de 2006
7. por la Cancillería de Estado del Cantón de la Ciudad de Basilea
8. No. 5'593/9'697
9. Sello/Estampilla
10. Firma (ilegible)
- Sello de la Cancillería de la Ciudad
- Heidi Fischer

TRADUCTORA OFICIAL
RES. 2177/89 MINJUSTICIA

ANITA ESCOBAR DE TAMAYO

MINISTERIO DE
RELACIONES EXTERIORES
2006 ENE 24 A 11:05
JEFE DE LEGALIZACIONES
BOGOTÁ D.C.

MINISTERIO DE
RELACIONES EXTERIORES
717474
Anita Escobar
BOGOTÁ D.C.
ASISTENTES INDICADAS

Traspaso

Yo/Nosotros, el suscrito

Joachim **Moecks**, matemático, ciudadano alemán
Max-Joseph-Strasse 9, D-68167 Mannheim, Alemania

Andreas **Strauss**, biólogo, ciudadano alemán
Ruhe am Bach 5b, D-82377 Penzberg, Alemania

Gerhard **Zugmaier**, médico, ciudadano alemán
Bavariastrasse 9A, D-80336 Muenchen, Alemania

CEDENTE(S), por el presente declaro que soy/somos el inventor(es)
único/conjunto de la invención llamada:

Método para la predicción de la respuesta a un tratamiento

para la cual la primera solicitud(es) se presentó así:

<u>País</u>	<u>Fecha de presentación</u>	<u>No. Serial</u>
23220 EP	12.08.2005	05017663.5

y que por una causa contractual adecuada, el recibo y suficiencia de lo cual se reconoce por el presente, yo/nosotros hemos inventado, cedido y transferido todos los derechos y título a y de dicha invención y de dicha solicitud(es) en todos los países del mundo al CESIONARIO:

200

F. Hoffmann-La Roche AG
Grenzacherstrasse 124,
CH-4070 Basel (Suiza)

La presente cesión es para, pero no se limita a, los siguientes países:

Argentina, Australia, Austria, Bélgica, Brasil, Canadá, Chile, Colombia, República Checa, Dinamarca, Finlandia, Francia, Alemania, Grecia, Hungría, Irlanda, Israel, Italia, Japón, Kazakhstán, Corea, Luxemburgo, México, Mónaco, Holanda, Nueva Zelanda, Noruega, Pakistán, República Popular China, Filipinas, Polonia, Portugal, Rusia, Arabia Saudita, Sur Africa, España, Suecia, Suiza, Taiwán, Turquía, Reino Unido de la Gran Bretaña e Irlanda del Norte, Ucrania, Uruguay, EE.UU., Venezuela.

En virtud de esta cesión dicho CESIONARIO tiene pleno poder para solicitar y obtener en su propio nombre o en cualquier otro nombre y para sus propios fines y cuenta PATENTE DE INVENCION en todo el mundo, especialmente en los países anteriormente nombrados, y a reivindicar el derecho de prioridad de la primera solicitud(es) presentada en el país (países) anteriormente nombrado de acuerdo con las convenciones internacionales.

Firmado en Basilea, Suiza
el 12 de abril de 2006

_____	Gerhard Zugmaier
(firma: ilegible)	Joachim Moecks
_____	Andreas Strauss

202

201

Legalización

Por el presente certificamos que la firma de la persona anteriormente nombrada

Gerhand Zugmaier, médico

empleado de F. Hoffmann-La Roche AG, a quien/es conocemos personalmente,
es auténtica.

Basilea, Suiza

No.

Traducido según mi mejor saber y entender, este día 22 de enero de 2008,
en la ciudad de Bogotá, D.C., por Anita Escobar de Tamayo, Traductora Oficial,
Res. 2177 de 1989, Ministerio de Justicia, República de Colombia.

TRADUCTORA OFICIAL
RES. 2177/89 MINJUSTICIA
Anita Escobar de Tamayo
ANITA ESCOBAR DE TAMAYO

207

(en copia)

Legalización de firma

Certifico la autenticidad de la firma antecedente puesta ante mí por el señor
Dr. Joachim Möcks, nacido el 16.01.1948
domiciliado en Max-Joseph-Strasse 9, 68167,
con su cédula de ciudadanía.

Mannheim, 24 de mayo de 2006

Notaría I Mannheim

Fdo.: firma ilegible
(Dr. Schwenger) Notario

1 UR 4728 / 2006

(sello redondo en tinta)

Costas en copias

NOTARIA

MANNHEIM

Sigue apostilla en inglés certificando la firma del notario P. Kuster bajo el No.
5.593/9.697 del 19 de junio de 2006. Sello oficial de la Cancillería de Estado de
Basilea.

ES TRADUCCION FIEL Y COMPLETA, de la cual se deja copia en los archivos de
estas oficinas para su confrontación.

Bogotá, 28 de enero de 2008

C. 1523

LUZ ARRIAGA DE HERBER
TRADUCTORA E INTERPRETE OFICIAL
Luz Arriaga de Herber
Resolución No. 599 Minjusticia

209

Colombia

Case 23220

Declaration

I, the undersigned Notary public of Basle/Switzerland, herewith declare that the annexed copy entitled Assignment is a true copy of the original document which has been presented to me by

F. Hoffmann-La Roche AG

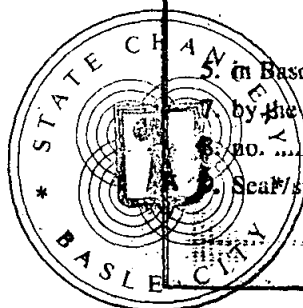
of Basle/Switzerland.

Basle/Switzerland this 15-06-2006 (fifteenth day of June two thousand and six)

Dr. P. Kuster
Möller

Dr. Peter Kuster
Advokat und Notar
Peterskirchplatz 12
Postfach
CH-4001 Basel

Leg. Prot. 2006 No. 302



APOSTILLE

(Hague Convention of October 5th, 1961)

1. Country: Switzerland (Schweiz/Suisse)

This official document

2. is signed by *P. Kuster*

3. in his/her function as *Advokat und Notar*

4. and certified by the seal of the *State Chancery*

Certified 19. Juni 2006

5. in Basel (Bâle)

6. on

7. by the State Chancery of the Canton of Basel-Stadt

8. No. *5522/9697*

9. Seal/stamp:

10. Signature:

Heidi Fischer

204

Assignment

I/WE, the undersigned

Joachim Moecks, mathematician, a German citizen
Max-Joseph-Strasse 9, D-68167 Mannheim, Germany

Andreas Strauss, biologist, a German citizen
~~Falkenstrasse 9, D-82377 Penzberg, Germany~~ Ruhe am Bach 5b, D-82377 Penzberg, Germany

Gerhard Zugmaier, physician, a German citizen
~~Sonnenbuehl 31, D-70597 Stuttgart, Germany~~ Bavariastrasse 9A, D-80336 Muenchen, Germany

ASSIGNOR(S), herewith declare that I am/we are the sole/joint inventor(s) of the invention entitled:

Method for predicting the response to a treatment

for which the first application(s) was (were) filed as follows:

<u>Country</u>	<u>Filing date</u>	<u>Serial No.</u>
23220 EP	12.08.2005	05017663.5

and that for good and valuable consideration, the receipt and sufficiency of which is hereby acknowledged, I/WE have sold, assigned and transferred all rights and title to and from the said invention and from the said application(s) in all countries of the world to the ASSIGNEE:

F. Hoffmann-La Roche AG
Grenzacherstrasse 124,
CH-4070 Basel(Switzerland)

The present assignment is for, but is not limited to the following countries:

Argentina, Australia, Austria, Belgium, Brazil, Canada, Chile, Colombia, Czech Republic, Denmark, Finland, France, Germany, Greece, Hungary, Ireland, Israel, Italy, Japan, Kazakhstan, Korea, Luxembourg, Mexico, Monaco, Netherlands, New Zealand, Norway, Pakistan, People's Republic of China, Philippines, Poland, Portugal, Russia, Saudi Arabia, South Africa, Spain, Sweden, Switzerland, Taiwan, Turkey, United Kingdom of Great Britain and Northern Ireland, Ukraine, Uruguay, U.S.A., Venezuela.

By virtue of this assignment the said ASSIGNEE is fully entitled to apply for and obtain in their own name or in any other name and for their own purposes and account LETTERS PATENT in the whole world, especially in the above-named countries, and to claim therefor the right of priority of the first filed application(s) in the above-named country (countries) in accordance with international conventions.

Signed at Basel, Switzerland
on April 12, 2006

Gerhard Zugmaier

Notarization required
further signatures see reverse side

Legalization

We hereby certify that the signature of the above named

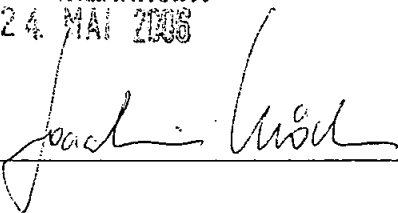
Gerhard Zugmaier, physician

in the employ of F. Hoffmann-La Roche AG, who is/are personally known to us, is genuine.

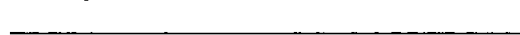
Basle, Switzerland

No.

Signed at Mannheim
on 24. MAI 2006



Joachim Moecks



Andreas Strauss

205

Unterschriftsbeglaubigung

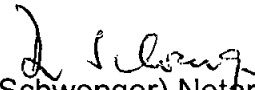
Vorseitige, vor mir vollzogene Unterschrift von

Herrn Dr. Joachim **Möcks**, geb. am 16.01.1948,
wohnhaf Max-Joseph-Strasse 9, 68167 Mannheim
- ausgewiesen durch Personalausweis -

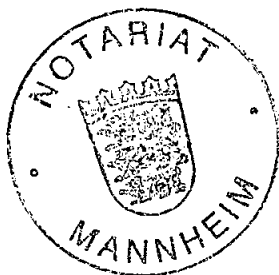
beglaubige ich.

Mannheim, den 24. Mai 2006

Notariat I Mannheim


(Dr. Schwenger) Notar

1 UR 4728 /2006
Kosten bei Zweitschrift



206

TRADUCCION OFICIAL No. 2008-01-22-021
DE UN DOCUMENTO ESCRITO EN INGLES

Colombia

Caso 23220

Declaración

Yo, el suscrito Notario Público de Basilea/Suiza, por el presente declaro que la copia adjunta llamada 'Traspaso' es una copia fiel del documento original que me ha presentado

F. Hoffmann-La Roche AG

de Basilea, Suiza,

Basilea, Suiza, este día 15-06-2006 (día quince de junio de dos mil seis)

Sello notarial

(firma: Ilegible)

Leg. Prot. 2006 No. 303

Notario Público

Dr. Peter Kuster
Abogado y Notario
Peterskirchplatz 12
Postfach
CH-4001 Basilea

207

APOSTILLA

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

1. País: Suiza
Este documento oficial
2. ha sido firmado por Dr. (ilegible) P. Kuster
3. actuando como Notario Oficial
4. lleva el sello/estampilla de (ilegible)

CERTIFICADO

5. en Basilea
6. el día 19 de junio de 2006
7. por la Cancillería de Estado del Cantón de la Ciudad de Basilea
8. No. 5'591/9'698
9. Sello/Estampilla
Sello de la Cancillería de la Ciudad
10. Firma (ilegible)
Heidi Fischer

TRADUCTORA OFICIAL
RES. 2177/89 MINJUSTICIA
ANITA ESCOBAR TAMAYO
BOGOTÁ D.C.
ENE 24 A 11:04
MINISTERIO DE JUSTICIA
JONESTAMAYO

117473
ANITA ESCOBAR
BOGOTÁ D.C.
MINISTERIO DE JUSTICIA
JONESTAMAYO
AS FUNCIONES INDICADAS

Caso 23220

Traspaso

Yo/Nosotros, el suscrito

Joachim **Moecks**, matemático, ciudadano alemán
Max-Joseph-Strasse 9, D-68167 Mannheim, Alemania

Andreas **Strauss**, biólogo, ciudadano alemán
Ruhe am Bach 5b, D-82377 Penzberg, Alemania

Gerhard **Zugmaier**, médico, ciudadano alemán
Bavariastrasse 9A, D-80336 Muenchen, Alemania

CEDENTE(S), por el presente declaro que soy/somos el inventor(es)
único/conjunto de la invención llamada:

Método para la predicción de la respuesta a un tratamiento

para la cual la primera solicitud(es) se presentó así:

<u>País</u>	<u>Fecha de presentación</u>	<u>No. Serial</u>
23220 EP	12.08.2005	05017663.5

y que por una causa contractual adecuada, el recibo y suficiencia de lo cual se reconoce por el presente, yo/nosotros hemos inventado, cedido y transferido todos los derechos y título a y de dicha invención y de dicha solicitud(es) en todos los países del mundo al CESIONARIO:

209

F. Hoffmann-La Roche AG
Grenzacherstrasse 124,
CH-4070 Basel (Suiza)

La presente cesión es para, pero no se limita a, los siguientes países:

Argentina, Australia, Austria, Bélgica, Brasil, Canadá, Chile, Colombia, República Checa, Dinamarca, Finlandia, Francia, Alemania, Grecia, Hungría, Irlanda, Israel, Italia, Japón, Kazakhstán, Corea, Luxemburgo, México, Mónaco, Holanda, Nueva Zelanda, Noruega, Pakistán, República Popular China, Filipinas, Polonia, Portugal, Rusia, Arabia Saudita, Sur Africa, España, Suecia, Suiza, Taiwán, Turquía, Reino Unido de la Gran Bretaña e Irlanda del Norte, Ucrania, Uruguay, EE.UU., Venezuela.

En virtud de esta cesión dicho CESIONARIO tiene pleno poder para solicitar y obtener en su propio nombre o en cualquier otro nombre y para sus propios fines y cuenta PATENTE DE INVENCION en todo el mundo, especialmente en los países anteriormente nombrados, y a reivindicar el derecho de prioridad de la primera solicitud(es) presentada en el país (países) anteriormente nombrado de acuerdo con las convenciones internacionales.

Firmado en Basilea, Suiza
el 12 de abril de 2006

_____	Gerhard Zugmaier
_____	Joachim Moecks
(firma: ilegible)	Andreas Strauss Penzberg, 27 de abril de 2006

216

210

Legalización

Por el presente certificamos que la firma de la persona anteriormente nombrada

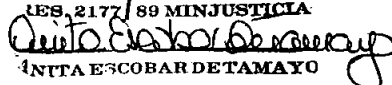
Gerhand Zugmaier, médico

empleado de F. Hoffmann-La Roche AG, a quien/es conocemos personalmente,
es auténtica.

Basilea, Suiza

No.

Traducido según mi mejor saber y entender, este día 22 de enero de 2008,
en la ciudad de Bogotá, D.C., por Anita Escobar de Tamayo, Traductora Oficial,
Res. 2177 de 1989, Ministerio de Justicia, República de Colombia.

TRADUCTORA OFICIAL
RES. 2177/89 MINJUSTICIA

ANITA ESCOBAR DE TAMAYO

217

211

TRADUCCION OFICIAL No. 13412

de un documento escrito en Alemán, efectuada por Luz Arriaga de Herber, resolución del Ministerio de Justicia 599 del 6 de marzo 1978.-

Traducción de las actuaciones en alemán que se encuentran a continuación de una declaración expedida en idioma inglés por el notario Peter Kuster, el 15.06.2006, en Basilea, Suiza, sobre la autenticidad de la copia de un documento de Cesión, caso 23220, escrito en inglés, presentado a él por la F. Hoffmann-La Roche AG.

(en copia)

Protocolo notarial URNo. K 665 / 2006

del 27 de abril de 2006 / li

Certifico la autenticidad de la firma antecedente puesta ante mí por el señor

Dr. Andreas Strauß, nacido el 12 de enero de 1966, Biólogo, domiciliado en Falkenstraße 9, 82377 Penzberg, identificado con documento oficial de identidad provisto de fotografía.

Penzberg, 27 de abril 2006

Fdo.: firma ilegible

Nikolaus Klöcker,
Notario de Weilheim i. OB.

(hilo y oblea notarial)

Sigue apostilla en inglés certificandd la firma del notario P. Kuster bajo el No. 5.594/9.698 del 19 de junio de 2006. Sello oficial de la Cancillería de Estado de Basilea.

=====

LUZ ARRIAGA DE HERBER
TRADUCTORA E INTERPRETE OFICIAL

Resolución No.599 Minjusticia

212

Colombia

Case 23220

Declaration

I, the undersigned Notary public of Basle/Switzerland, herewith declare that the annexed copy entitled Assignment is a true copy of the original document which has been presented to me by

F. Hoffmann-La Roche AG

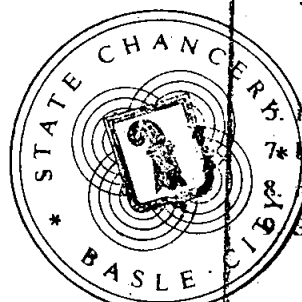
of Basle/Switzerland.

Basle/Switzerland, this 15-06-2006 (fifteenth day of June two thousand and six)

Dr. P. Kuster
Mblw

Dr. Peter Kuster
Advokat und Notar
Peterskirchplatz 12
Postfach
CH-4001 Basel

Leg. 2006 No. 303



APOSTILLE	
(Hague Convention of October 5th, 1961)	
1. Country: Switzerland (Schweiz/Suisse)	
This official document	
2. is signed by	<i>P. Kuster</i>
3. in his/her function as	<i>Off. Peter</i>
4. and certified by the seal of the	<i>[Signature]</i>
Certified 19. Juni 2006	
5. in Basel (Bâle)	6. on
7* by the State Chancery of the Canton of Basel-Stadt	
8. Seal/stamp:	9. Signature: <i>[Signature]</i>
Heidi Fischer	

219

Assignment

I/WE, the undersigned

Joachim Moecks, mathematician, a German citizen
Max-Joseph-Strasse 9, D-68167 Mannheim, Germany

Andreas Strauss, biologist, a German citizen
~~Falkenstrasse 9, D-82377 Penzberg, Germany~~ Ruhe am Bach 5b, D-82377 Penzberg, Germany

~~Gerhard Zugmaier, physician, a German citizen~~ Gerhard Zugmaier, physician, a German citizen
Sonnenbuehl 31, D-70597 Stuttgart, Germany Bavariastrasse 9A, D-80336 Muenchen, Germany

ASSIGNOR(S), herewith declare that I am/we are the sole/joint inventor(s) of the invention entitled:

Method for predicting the response to a treatment

for which the first application(s) was (were) filed as follows:

<u>Country</u>	<u>Filing date</u>	<u>Serial No.</u>
23220 EP	12.08.2005	05017663.5

and that for good and valuable consideration, the receipt and sufficiency of which is hereby acknowledged, I/WE have sold, assigned and transferred all rights and title to and from the said invention and from the said application(s) in all countries of the world to the ASSIGNEE:

F. Hoffmann-La Roche AG
Grenzacherstrasse 124,
CH-4070 Basel (Switzerland)

The present assignment is for, but is not limited to the following countries:

Argentina, Australia, Austria, Belgium, Brazil, Canada, Chile, Colombia, Czech Republic, Denmark, Finland, France, Germany, Greece, Hungary, Ireland, Israel, Italy, Japan, Kazakhstan, Korea, Luxembourg, Mexico, Monaco, Netherlands, New Zealand, Norway, Pakistan, People's Republic of China, Philippines, Poland, Portugal, Russia, Saudi Arabia, South Africa, Spain, Sweden, Switzerland, Taiwan, Turkey, United Kingdom of Great Britain and Northern Ireland, Ukraine, Uruguay, U.S.A., Venezuela.

By virtue of this assignment the said ASSIGNEE is fully entitled to apply for and obtain in their own name or in any other name and for their own purposes and account LETTERS PATENT in the whole world, especially in the above-named countries, and to claim therefor the right of priority of the first filed application(s) in the above-named country (countries) in accordance with international conventions.

Signed at Basel, Switzerland
on April 12, 2006

Gerhard Zugmaier

Notarization required
further signatures see reverse side

Legalization

We hereby certify that the signature of the above named

Gerhard Zugmaier, physician

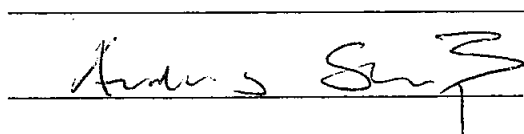
in the employ of F. Hoffmann-La Roche AG, who is/are personally known to us, is genuine.

Basle, Switzerland

No.

Signed at
on

Joachim Moecks

A handwritten signature in dark ink, appearing to read 'Andreas Strauss', is written over a horizontal line.

Andreas Strauss

Penzberg, April 27th, 2006

214

URNr. **K 655** / 2006

vom 27. April 2006 / li

Ich beglaubige die vorstehende, vor mir vollzogene Unterschrift von

Herrn Dr. Andreas Strauß, geboren am 12. Januar 1966, Biologe,
Falkenstraße 9, 82377 Penzberg, ausgewiesen durch amtlichen
Lichtbildausweis.

Penzberg, 27. April 2006



Nikolaus Klöcker,
Notar in Weilheim i. OB.

122

215

TRADUCCION OFICIAL No. 2008-01-22-022
DE UN DOCUMENTO ESCRITO EN INGLES

Colombia

Caso 23220

Declaración

Yo, el suscrito Notario Público de Basilea/Suiza, por el presente declaro que la copia adjunta llamada 'Traspaso' es una copia fiel del documento original que me ha presentado

F. Hoffmann-La Roche AG

de Basilea, Suiza,

Basilea, Suiza, este día 15-06-2006 (día quince de junio de dos mil seis)

Sello notarial

(firma: ilegible)

Leg. Prot. 2006 No. 304

Notario Público

Dr. Peter Kuster
Abogado y Notario
Peterskirchplatz 12
Postfach
CH-4001 Basilea

222

216

APOSTILLA

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

1. País: Suiza
Este documento oficial
2. ha sido firmado por Dr. (ilegible) P. Kuster
3. actuando como Notario Oficial
4. lleva el sello/estampilla de (ilegible)

CERTIFICADO

5. en Basilea
6. el día 19 de junio de 2006
7. por la Cancillería de Estado del Cantón de la Ciudad de Basilea
8. No. 5'592/9'699
9. Sello/Estampilla
10. Firma (ilegible)
- Sello de la Cancillería de la Ciudad
- Heidi Fischer

TRADUCTORA OFICIAL
JULIO 2006
BO
D.C.
ANILIZACIONES
CORREO DE TAMA
JUN 20 2006
4:11:04

717472
Escobar
DOCUMENTOS
AS FUNCIONES INDICADAS
DEL TEXTO

217

Caso 23220

Traspaso

Yo/Nosotros, el suscrito

Joachim **Moecks**, matemático, ciudadano alemán
Max-Joseph-Strasse 9, D-68167 Mannheim, Alemania

Andreas **Strauss**, biólogo, ciudadano alemán
Ruhe am Bach 5b, D-82377 Penzberg, Alemania

Gerhard **Zugmaier**, médico, ciudadano alemán
Bavariastrasse 9A, D-80336 Muenchen, Alemania

CEDENTE(S), por el presente declaro que soy/somos el inventor(es)
único/conjunto de la invención llamada:

Método para la predicción de la respuesta a un tratamiento

para la cual la primera solicitud(es) se presentó así:

<u>País</u>	<u>Fecha de presentación</u>	<u>No. Serial</u>
23220 EP	12.08.2005	05017663.5

y que por una causa contractual adecuada, el recibo y suficiencia de lo cual se reconoce por el presente, yo/nosotros hemos inventado, cedido y transferido todos los derechos y título a y de dicha invención y de dicha solicitud(es) en todos los países del mundo al CESIONARIO:

224

F. Hoffmann-La Roche AG
Grenzacherstrasse 124,
CH-4070 Basel (Suiza)

La presente cesión es para, pero no se limita a, los siguientes países:

Argentina, Australia, Austria, Bélgica, Brasil, Canadá, Chile, Colombia, República Checa, Dinamarca, Finlandia, Francia, Alemania, Grecia, Hungría, Irlanda, Israel, Italia, Japón, Kazakhstán, Corea, Luxemburgo, México, Mónaco, Holanda, Nueva Zelanda, Noruega, Pakistán, República Popular China, Filipinas, Polonia, Portugal, Rusia, Arabia Saudita, Sur Africa, España, Suecia, Suiza, Taiwán, Turquía, Reino Unido de la Gran Bretaña e Irlanda del Norte, Ucrania, Uruguay, EE.UU., Venezuela.

En virtud de esta cesión dicho CESIONARIO tiene pleno poder para solicitar y obtener en su propio nombre o en cualquier otro nombre y para sus propios fines y cuenta PATENTE DE INVENCION en todo el mundo, especialmente en los países anteriormente nombrados, y a reivindicar el derecho de prioridad de la primera solicitud(es) presentada en el país (países) anteriormente nombrado de acuerdo con las convenciones internacionales.

Firmado en Basilea, Suiza
el 12 de abril de 2006

(firma: ilegible)

Gerhard Zugmaier

Joachim Moecks

Andreas Strauss

219

Legalización

Por el presente certificamos que la firma de la persona anteriormente nombrada

Gerhand Zugmaier, médico

empleado de F. Hoffmann-La Roche AG, a quien/es conocemos personalmente,
es auténtica.

Basilea, Suiza

No. 8'053 18 Mayo 2006

(firma: ilegible)

Cancillería de Estado del

Heidi Fischer

Cantón de la Ciudad de Basilea

Sello: Cancillería de Estado * Ciudad de Basilea *

Traducido según mi mejor saber y entender, este día 22 de enero de 2008,
en la ciudad de Bogotá, D.C., por Anita Escobar de Tamayo, Traductora Oficial,
Res. 2177 de 1989, Ministerio de Justicia, República de Colombia.

TRADUCTORA OFICIAL
RES. 2177/89 MIN. JUSTICIA
Anita Escobar de Tamayo
ANITA ESCOBAR DE TAMAYO

226

Colombia

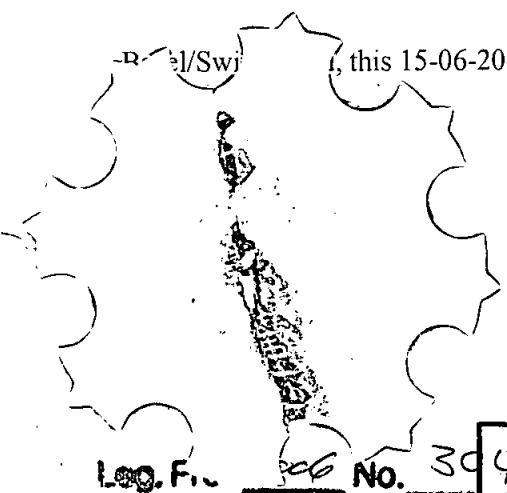
Case 23220

Declaration

I, the undersigned Notary public of Basle/Switzerland, herewith declare that the annexed copy entitled Assignment is a true copy of the original document which has been presented to me by

F. Hoffmann-La Roche AG

of Basle/Switzerland.



Basle/Switzerland, this 15-06-2006 (fifteenth day of June two thousand and six)

Dr. P. Kuster
Notar

Dr. Peter Kuster
Advokat und Notar
Peterskirchplatz 12
Postfach
CH-4001 Basel

Leg. F. No. 304

APOSTILLE

(Hague Convention of October 5th, 1961)

1. Country: Switzerland (Schweiz / Suisse)

This official document

2. is signed by

3. in his/her function as

4. and certified by the seal of the

Certified 19. Juni 2006

5. in Basel (Basle)

6. on

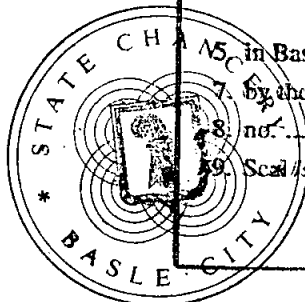
7. By the State Chancery of the Canton of Basel-Stadt

8. no. 5592/9'699

9. Seal / Stamp

10. Signature:

Heidi Fischer



Assignment

I/WE, the undersigned

Joachim Moecks, mathematician, a German citizen
Max-Joseph-Strasse 9, D-68167 Mannheim, Germany

Andreas Strauss, biologist, a German citizen
~~Falkenstrasse 9, D-82377 Penzberg, Germany~~ Ruhe am Bach 5b, D-82377 Penzberg, Germany

Gerhard Zugmaier, physician, a German citizen
~~Sonnenbühl 31, D-70597 Stuttgart, Germany~~ Bavariastrasse 9A, D-80336 Muenchen, Germany

ASSIGNOR(S), herewith declare that I am/we are the sole/joint inventor(s) of the invention entitled:

Method for predicting the response to a treatment

for which the first application(s) was (were) filed as follows:

<u>Country</u>	<u>Filing date</u>	<u>Serial No.</u>
23220 EP	12.08.2005	05017663.5

and that for good and valuable consideration, the receipt and sufficiency of which is hereby acknowledged, I/WE have sold, assigned and transferred all rights and title to and from the said invention and from the said application(s) in all countries of the world to the ASSIGNEE:

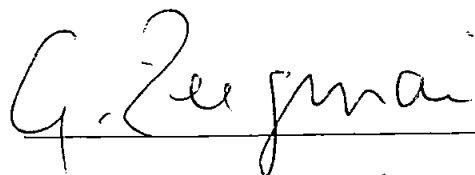
F. Hoffmann-La Roche AG
Grenzacherstrasse 124,
CH-4070 Basel(Switzerland)

The present assignment is for, but is not limited to the following countries:

Argentina, Australia, Austria, Belgium, Brazil, Canada, Chile, Colombia, Czech Republic, Denmark, Finland, France, Germany, Greece, Hungary, Ireland, Israel, Italy, Japan, Kazakhstan, Korea, Luxembourg, Mexico, Monaco, Netherlands, New Zealand, Norway, Pakistan, People's Republic of China, Philippines, Poland, Portugal, Russia, Saudi Arabia, South Africa, Spain, Sweden, Switzerland, Taiwan, Turkey, United Kingdom of Great Britain and Northern Ireland, Ukraine, Uruguay, U.S.A., Venezuela.

By virtue of this assignment the said ASSIGNEE is fully entitled to apply for and obtain in their own name or in any other name and for their own purposes and account LETTERS PATENT in the whole world, especially in the above-named countries, and to claim therefor the right of priority of the first filed application(s) in the above-named country (countries) in accordance with international conventions.

Signed at Basel, Switzerland
on April 12, 2006



Gerhard Zugmaier

Notarization required
further signatures see reverse side

Legalization

We hereby certify that the signature of the above named

Gerhard Zugmaier, physician

in the employ of F. Hoffmann-La Roche AG, who is/are personally known to us, is genuine.

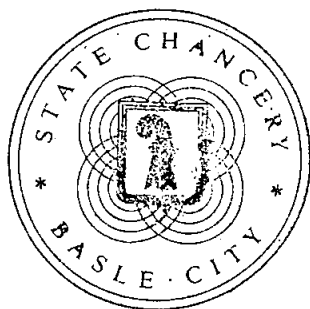
Basle, Switzerland

No.

p. 20

18. Mai 2006

Fischer
Heidi Fischer

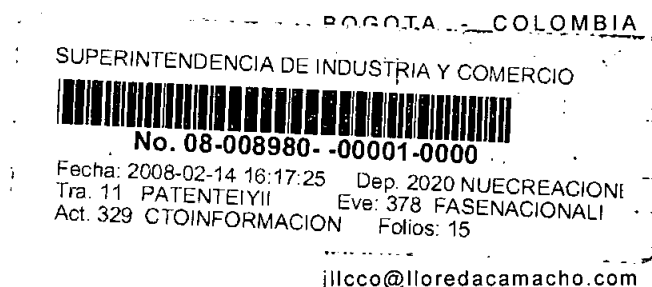


State Chancery of the
Canton of Basle-City

Signed at
on

_____, Joachim Moecks

_____, Andreas Strauss



Señor
SUPERINTENDENTE DE INDUSTRIA Y COMERCIO
DIVISION DE NUEVAS CREACIONES
E. _____ S. _____ D. _____

Re: P1.-F. HOFFMANN-LA ROCHE AG.-Solicitud de Patente de Invención en Fase Nacional PCT para "MÉTODO PARA LA PREDICCIÓN DE LA RESPUESTA A UN TRATAMIENTO CON UN INHIBIDOR DE LA DIMERIZACIÓN DE HER".-Clase C12Q 1/68.-Expediente número 08-008.980.-

1. Me refiero a la solicitud de patente de la referencia, radicada ante ese Despacho el 30 de Enero de 2008.

2. Debidamente autorizado por mí representado me permito manifestar a ese Despacho que es deseo del solicitante presentar un nuevo juego de reivindicaciones en el que se cancelan las reivindicaciones 24 y 32, del capítulo reivindicatorio originalmente presentado.

Llamo la atención de ese Despacho al hecho de que este nuevo juego de reivindicaciones es el que debe ser tenido en cuenta para el trámite de la presente solicitud en Fase Nacional.

En relación con la anterior modificación, atentamente me permito manifestar a ese Despacho que la misma **no amplía** de manera alguna el alcance de la presente invención.

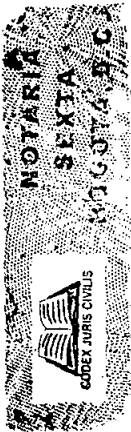
3. Anexos me permito presentar:

- (a) Recibo No. 08-10,979, que acredita el pago de la tasa de modificación;
- (b) Formulario único de modificaciones y correcciones; y
- (c) Copia del capítulo reivindicatorio, el cual consta de 14 reivindicaciones, que reemplaza aquel presentado originalmente.

4. Ruego a usted tomar atenta nota de lo anterior y proceder de conformidad.

Señor Superintendente,

Alicia Lloreda Ricaurte
ALICIA LLORED RICAURTE
T.P. 53.215



NOTARIA SEXTA DE BOGOTA
RECONOCIMIENTO Y PRESENTACION PERSONAL
Bogotá, D.C. **11 2 FEB 2008**
Ante mí **JUAN MANUEL BOTERO MEDINA**
NOTARIO SEXTO DEL CIRCULO DE BOGOTA

Comparecieron: *Alicia Lloreda Ricaurte*

quien (es) exhibió(aron) la(s) C.C. *39.690.713*
53.215

y declaró(aron) que la(s) firma(s) que aparece(n) en el presente documento es(son) la(s) suya(s) y que el contenido del mismo es cierto. En constancia se firma esta diligencia

Alicia Lloreda Ricaurte
ALICIA LLORED RICAURTE

C.C. No. 39.690.713 de Usaquén

