Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

CSA716328

Delegatura de propiedad Industrial

División de Nuevas Creaciones

INVENTARIO
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
BT
Organizacion y
Digitalizacion CSA Ltd

PCT

SOLICITUD

PATENTE DE INVENCIÓN

09-10989

1. **EXPEDIENTE No.** _____

4. **TÍTULO** *MIMETICUERPOS DE PÉPTIDO-1 SIMILAR A GLUCAGON DE HUMANO, COMPOSICIONES, METODOS Y USOS.*

1. **CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL** *C07K 14/605*

1. **SOLICITANTE** *CENTOCOR, INC.*

DOMICILIO *MALVERN, PENNSYLVANIA, ESTADOS UNIDOS DE AMERICA*

4. **APODERADO** *JIMENA ESCOBAR URIBE*

2. **BOGOTÁ, D. C.,** _____

)RMA P-10)

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 09-010989- -00000-0000
Fecha: 2009-02-05 15:49:07 Dep. 2020 NUECREACIONI
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 316

FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD DE PATENTE
PCT
ENTRADA EN FASE NACIONAL 18 Feb 2009

1 SOLICITUD DE:

[X] Patente de Invención [ ] Patente de Modelo de Utilidad

[X] Capitulo I [ ] Capitulo II

2 SOLICITANTE (71)	Nombre: **CENTOCOR, INC.** Dirección: 200 Great Valley Parkway, Malvern, Pennsylvania 19355, Estados Unidos de América. Nacionalidad o Domicilio: Malvern, Pennsylvania, Estados Unidos de América Lugar de Constitución : Pennsylvania, Estados Unidos de América Teléfono: Fax: E-mail	**IDENTIFICACIÓN** C.C. [ ] NIT [ ] C.E. [ ] Otro [ ] **Número**
3 REPRESENTANTE O APODERADO (74)	Nombre: JIMENA ESCOBAR URIBE Dirección: Cra. 11 No. 86-53 piso 6 Teléfono: 6 162051/61 Fax: 6 161889 E-mail: Jiescobar@clarkemodet.com.co	**IDENTIFICACIÓN** C.C. [X] NIT [ ] C.E. [ ] Otro [ ] **Número** 39.779.452**T.P** 68228
4 INVENTOR (ES) (72)	Nombre: **O´NEIL, Karyn T. y PICHA, Kristen** Dirección: 601 Beatty Road, Media, Pennsylvania 19063, Estados Unidos de América y 2065 Yellow Springs Road, Malvern, Pennsylvania 19355, Estados Unidos de América. Nacionalidad o domicilio: Estadounidenses	

5 PCT (86)

Solicitud Internacional No. **PCT/US2007/073752** Fecha **18 de julio de 2007**

Publicación Internacional No. **WO 2008/011446 A3** Fecha **24 de enero de 2008**

6 TITULO (54) **MIMETICUERPOS DE PEPTIDO-1 SIMILAR A GLUCAGON DE HUMANO, COMPOSICIONES, METODOS Y USOS.**

7 Clasificación Internacional (51) C07K 14/605

8 Prioridad SI [X] NO [ ]	(33) País de Origen	(32) Fecha	(31) Número de Solicitud
	Estados Unidos de América	**18 de julio de 2006**	**60/831,704**

9 Comprobante de pago No. 08-98,807 // 09-2,800 // 08-98,802 // 09-2,848 // 9-8,576 // 9-8,708 // 9- 8,707
Fecha 18/12/08 // 13/01/09 // 18/12/08 // 13/01/09 // 3/02/09 // 3/02/09 // 3//02/09 .

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

11 FIGURA CARACTERÍSTICA

12 Solicito la concesión de la patente

NOMBRE: JIMENA ESCOBAR URIBE

FIRMA: _____

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

As. P-2095

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 08 - 98,807
FECHA : DICIEMBRE 18 DE 2008

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 09-010989- -00000-0000
Fecha: 2009-02-05 15:49:07 Dep. 2020 NUECREACIONI
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 316

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

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
CLARKE MODET Y CO. COLOMB	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	95150613	18/12/2008	64,440,000.00

***** C O N C E P T O *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	7 TRAMITES DE SOL. DE DISENOS INDUS	501,000.00
		TOTAL : $	501,000.00

SON: QUINIENTOS UN MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No._____

P-2095

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 09 - 2,800
FECHA : ENERO 13 DE 2009

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

No. 09-010989- -00000-0000

Fecha: 2009-02-05 15:49:07 Dep. 2020 NUECREACION
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 316

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

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
CLARKE MODET Y CO. COLOMB	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	107995683	13/01/2009	40,435,000.00

C O N C E P T O

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO		TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-09 OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD I	998	VALOR COMPLEMENTO TARIFA A#O ANTR	39,000.00
			TOTAL : $	39,000.00

SON: TREINTA Y NUEVE MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No._____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 08 - 98,802
FECHA : DICIEMBRE 18 DE 2008



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

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
CLARKE MODET Y CO. COLOMB	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	95150613	18/12/2008	64,440,000.00

***** C O N C E P T O *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	7 TRAMITES DE SOL. DE DISENOS INDUS	501,000.00
		TOTAL : $	501,000.00

SON: QUINIENTOS UN MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No._____

P-2095

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

CERTIFICACION DE EXCEDENTE : 09 - 2,848
FECHA : ENERO 13 DE 2009

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 09-010989- -00000-0000
Fecha: 2009-02-05 15:49:07 Dep. 2020 NUECREACIONI
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 316

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

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
CLARKE MODET Y CO. COLOMB	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	107995683	13/01/2009	40,435,000.00

***** C O N C E P T O *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO		TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-09 OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD I	99 OTROS SERVCIOS ADMINISTRATIVOS		50,000.00
		TOTAL :	$	50,000.00

SON: CINCUENTA MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No._____

ESTA CERTIFICACION DE EXCEDENTE DE PAGO SOLO PODRA SER UTILIZADA COMO PARTE DE LA CANCELACION DE UNA TARIFA VIGENTE Y NO PODRA SER SUSTITUIDA POR NINGUN RECIBO.

5

NIT : 8001716088-2

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

No. 09-010989- -00000-0000

Fecha: 2009-02-05 15:49:07 Dep. 2020 NUECREACIONI
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 316

CERTIFICACION DE EXCEDENTE : 9 - 8,576
FECHA : FEBRERO 3 DE 2009

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

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
CLARKE MODET Y CO. COLOMB	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	108004750	02/02/2009	31,570,000.00

***** C O N C E P T O *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-09 OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD I	99 OTROS SERVCIOS ADMINISTRATIVOS	20,000.00
		TOTAL : $	20,000.00

SON: VEINTE MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL ASUNTO No.

ESTA CERTIFICACION DE EXCEDENTE DE PAGO SOLO PODRA SER UTILIZADA COMO PARTE DE LA CANCELACION DE UNA TARIFA VIGENTE Y NO PODRA SER SUSTITUIDA POR NINGUN RECIBO.

NIT : 80017608

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

No. 09-010989- -00000-0000

Fecha: 2009-02-05 15:49:07 Dep. 2020 NUECREACIONI
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 316

CERTIFICACION DE EXCEDENTE : 9 - 8,708
FECHA : FEBRERO 3 DE 2009

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

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
CLARKE MODET Y CO. COLOMB	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	108004750	02/02/2009	31,570,000.00

***** C O N C E P T O *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-09 OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD I	99 OTROS SERVCIOS ADMINISTRATIVOS	2,000.00
		TOTAL : $	2,000.00

SON: DOS MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL ASUNTO No.

ESTA CERTIFICACION DE EXCEDENTE DE PAGO SOLO PODRA SER UTILIZADA COMO PARTE DE LA CANCELACION DE UNA TARIFA VIGENTE Y NO PODRA SER SUSTITUIDA POR NINGUN RECIBO.

7

NIT

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

No. 09-010989- -00000-0000

Fecha: 2009-02-05 15:49:07 Dep. 2020 NUECREACIONI
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 316

CERTIFICACION DE EXCEDENTE : 9 - 8,707
FECHA : FEBRERO 3 DE 2009

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

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
CLARKE MODET Y CO. COLOMB	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	108004750	02/02/2009	31,570,000.00

***** C O N C E P T O *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-09 OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD I	99 OTROS SERVCIOS ADMINISTRATIVOS	2,000.00
		TOTAL : $	2,000.00

SON: DOS MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL ASUNTO No.

ESTA CERTIFICACION DE EXCEDENTE DE PAGO SOLO PODRA SER UTILIZADA COMO PARTE DE LA CANCELACION DE UNA TARIFA VIGENTE Y NO PODRA SER SUSTITUIDA POR NINGUN RECIBO.

APOSTILLE

(CONVENTION DE LA HAYE DU 5 OCTOBRE 1961)

1. COUNTRY: UNITED STATES OF AMERICA

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

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

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

CERTIFIED

5. AT TRENTON, NEW JERSEY

6. THE 24TH DAY OF APRIL 2003

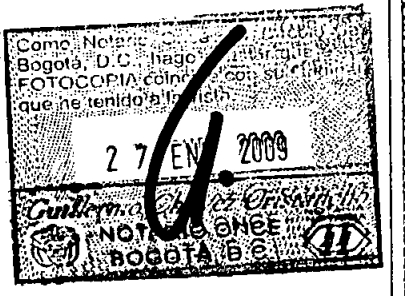
7. BY: John E McCormac, CPA, NEW JERSEY TREASURER

8. NO. A170758

9. SEAL/STAMP:

10. SIGNATURE



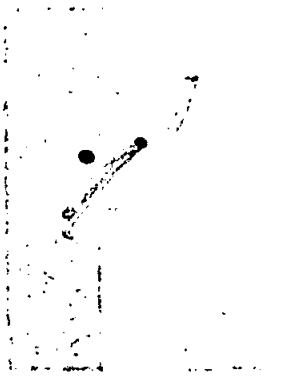


Traducción e Interprete Oficial
Resolución No. 1448 Minjusticia

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

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

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



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

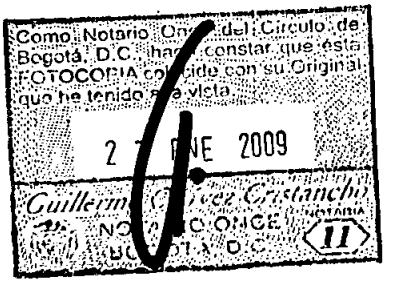
EN PÁGINA ADJUNTA HAY APOSTILLA

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

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

CERTIFICADO

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



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

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

NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

Como Notario ... Bogotá, D.C., hago constar que esta FOTOCOPIA coincide con su Original que he tenido a la vista.

27 ENE 2009

Guillermo ... Cristancho
NOTARIO ONCE
BOGOTA, D.C.
NOTARIA 11

CEN 186/249 COL(L)

POWER OF ATTORNEY

The undersigned GUY KEVIN TOWNSEND

acting on behalf of and representing CENTOCOR, INC.

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

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

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

Signed at NEW BRUNSWICK, N.J., USA

on MARCH 27, 2003

GUY KEVIN TOWNSEND
ASSISTANT SECRETARY

DOCUMENTO DE PODER

El suscrito GUY KEVIN TOWNSEND

obrando en nombre y representación de CENTOCOR, INC.

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

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

Como Notario Único del Círculo de Bogotá, D.C., hago constar que esta FOTOCOPIA coincide con su Original. Que la firma [illegible] 2009

Firmado en NEW BRUNSWICK, N.J. USA

el 27 de March de 2003

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

11

APOSTILLE

(CONVENTION DE LA HAYE DU 5 OCTOBRE 1961)

1. COUNTRY: UNITED STATES OF AMERICA

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

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

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

CERTIFIED

5. AT TRENTON, NEW JERSEY

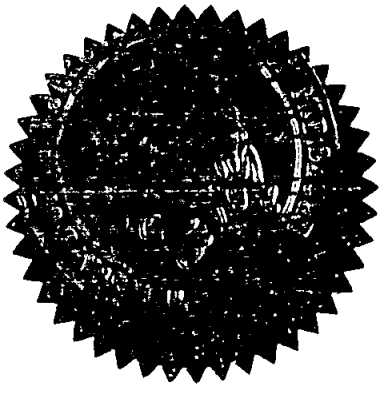
6. THE 24TH DAY OF APRIL 2003

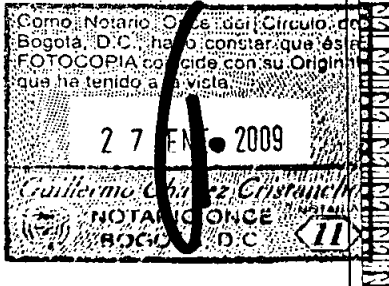
7. BY: John E McCormac, CPA, NEW JERSEY TREASURER

8. NO. A170759

9. SEAL/STAMP:

10. SIGNATURE





Resolución No. 1448 Minjusticia

CEN 186/249 COLOMBIA

CERTIFICATION BY PUBLIC NOTARY

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

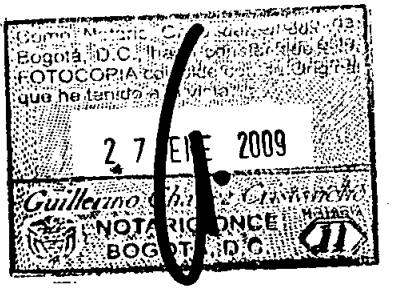
1. CENTOCOR, INC. is a corporation of the State of Pennsylvania.

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

Executed this 27th day of March, 2003

CHRISTINA A. CLICKNER

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



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

CEN 186/249 COLOMBIA

CERTIFICADO DE NOTARIO PUBLICO

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

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

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

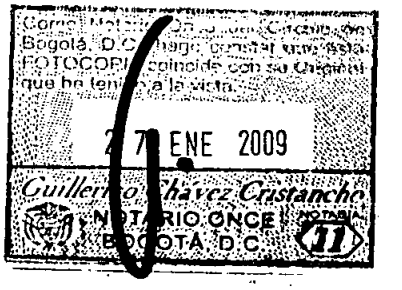
Ejecutado EL 27 de marzo de 2003-05-25

Firmado por
CHRISTINA A. CLICKNER

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

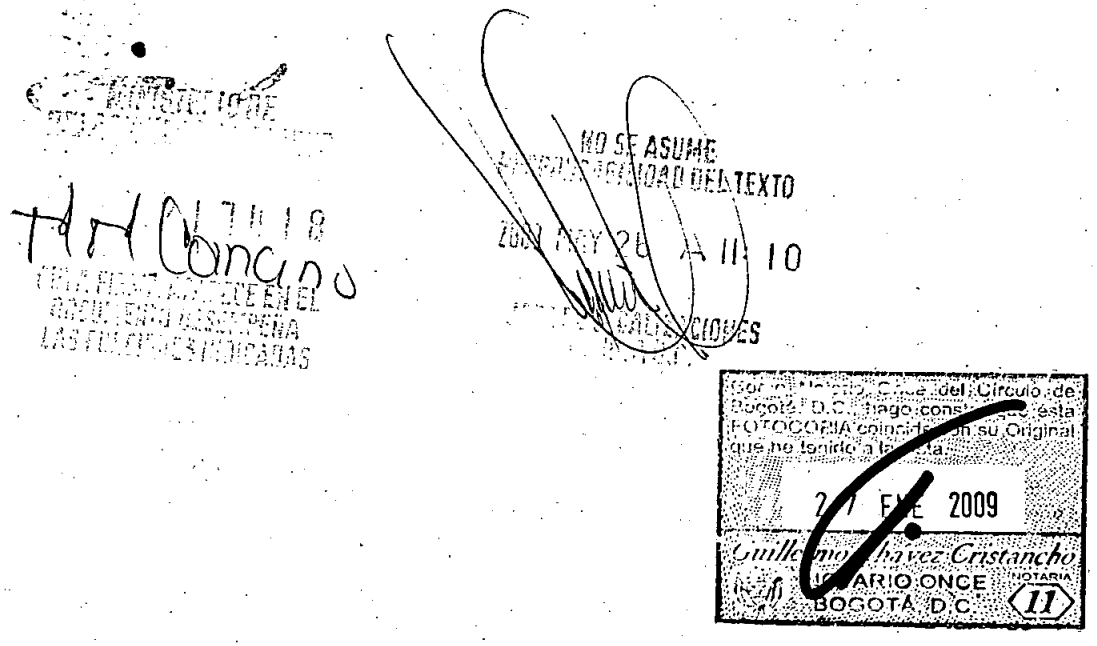
EN PÁGINA ADJUNTA HAY APOSTILLA
APOSTILLA
(Convención de la Haya del 5 de octubre de 1961)
1. País: Estados Unidos de América
   Este documento público
2. ha sido firmado por: Christina A. Clickner
3. actuando en su capacidad de: Notario Público de New Jersey
4. lleva el sello de : Christina A. Clickner - Notario

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



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

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


NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO
ZONA REGISTRAL
Guillermo Chavez Cristancho
NOTARIO ONCE
BOGOTA D.C.
11

RESUMEN DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a por lo menos un mimeticuerpo de GLP-1 de humano mejorado o porción especificada o variante incluyendo ácidos nucleicos aislados que codifican al menos un mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o variante, mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o variantes, vectores, células hospederas, animales o plantas transgénicos, y métodos de elaboración y uso de los mismos, incluyendo composiciones terapéuticas, métodos y dispositivos.

31B

P09-52F

MIMETICUERPOS DE PEPTIDO-1 SIMILAR A GLUCAGON DE HUMANO, COMPOSICIONES, METODOS Y USOS

REFERENCIA CRUZADA A SOLICITUDES RELACIONADAS

Esta solicitud reclama prioridad de los beneficios de la presentación de la Solicitud Provisional de E.U.A. No. de serie 60/831,704, presentada el 18 de julio de 2006. Las descripciones completas de la solicitud de patente de E.U.A. relacionada mencionada anteriormente se incorporan por la presente para referencia para todos los propósitos.

CAMPO DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a mimeticuerpos de GLP-1 de mamífero mejorados, porciones especificadas y variantes específicas para proteínas biológicamente activas, fragmento o ligandos, mimeticuerpo de GLP-1 de codificación y ácidos nucleicos complementarios, células hospederas, y métodos de elaboración y uso de los mismos, incluyendo formulaciones terapéuticas, administración y dispositivos.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

Proteínas recombinantes son una clase emergente de agentes

terapéuticos. Dichos terapéuticos recombinantes han engendrado avances en la formulación de proteínas y modificación química. Dichas modificaciones pueden incrementar potencialmente la utilidad terapéutica de proteínas terapéuticas, tales como al incrementar las vidas medias (por ejemplo, al bloquear su exposición a enzimas proteolíticas), incrementar la actividad biológica, o reducir los efectos secundarios indeseados. Una dicha modificación es el uso de fragmentos de inmunoglobulina fusionados a proteínas receptoras, tales como enteracept. Proteínas terapéuticas también se han construido usando el dominio Fc para intentar proveer una vida media más larga o para incorporar funciones tales como unión del receptor Fc, unión de proteína A, y fijación del complemento.

La diabetes es una epidemia creciente que se estima afecte a alrededor de 300 millones de personas para el año 2025 pendientes de una cura farmacéutica efectiva. La diabetes tipo 2 asciende al 90-95% de todos los casos. Complicaciones que resultan de niveles de glucosa en plasma elevados sostenidos incluyen enfermedad cardiovascular, nefropatía, neuropatía y retinopatía. Adicionalmente, las células β del páncreas mueren y por lo tanto dejan de secretar insulina durante las etapas últimas de diabetes tipo 2. Tratamientos actuales para diabetes se asocian con una variedad de efectos secundarios nocivos incluyendo hipoglicemia y ganancia de peso. Además, tratamientos actuales para la diabetes tipo 2 no curan la enfermedad sino que prolongan simplemente el tiempo hasta que los pacientas requieran terapia con insulina.

Péptido similar a glucagón (GLP-1) es un péptido de 37-aminoácidos secretado de las células L del intestino seguido de un desafío de glucosa oral. Una escisión endógena posterior entre la posición 6 y 7 produce el péptido de GLP-1 biológicamente activo (7-37). La secuencia peptídica (7-37) de GLP-1 se puede dividir en 2 dominios estructurales. El dominio del péptido está involucrado en la señalización mientras el resto del péptido parece unirse a los bucles extracelulares del receptor de GLP-1 en una configuración helicoidal. En respuesta a la glucosa, el GLP-1 activo se une al receptor de GLP-1 en el páncreas y causa un incremento en la secreción de insulina (acción insulinotrópica). Además, se ha mostrado que el GLP-1 reduce el vaciado gástrico que disminuye el bolo de glucosa que se libera en la circulación y puede reducir la ingesta de alimentos. Estas acciones en los niveles de glucosa en sangre más bajos de combinación. GLP-1 también ha mostrado que inhibe apóptosis e incrementa la proliferación de las células β en el páncreas. De este modo, GLP-1 es un terapéutico atractivo para disminuir la glucosa en sangre y conservar las células β del páncreas de pacientes diabéticos. Además, la actividad de GLP-1 es controlada por los niveles de glucosa en sangre. Cuando los niveles de glucosa en sangre caen a un cierto nivel umbral, GLP-1 no es activo. Por lo tanto, no hay riesgo de hipoglicemia asociada con tratamiento que involucra GLP-1.

La viabilidad de terapia con GLP-1 se ha demostrado en la clínica. Una infusión de GLP-1 en la semana seis disminuye los niveles de glucosa en plasma media en ayunas y 8 horas efectivamente en pacientes

con diabetes tipo 2. La terapia con GLP-1 también resulta en una mejora en la función de células β. Exenatida es un análogo de GLP-1 comúnmente en pruebas clínicas. Exenatida se identifica primero en la saliva del lagarto monstruo de Gila, y es 53% idéntica a GLP-1. La exenatida se puede unir al receptor de GLP-1 e inicia la cascada de transducción de señal responsable de las numerosas actividades que se han atribuido a GLP-1 (7-37). Hasta la fecha, ha mostrado que reduce los niveles de HbA1c y niveles de fructosamina en suero en pacientes con diabetes tipo 2. Además, retarda el vaciado gástrico e inhibe la ingesta de alimentos en voluntarios saludables.

Sin embargo, GLP-1 se inactiva rápidamente *in vivo* mediante la proteasa dipeptidil.peptidasa IV (DPP-IV). Por lo tanto, la utilidad de la terapia que involucra los péptidos de GLP-1 se ha limitado por su vaciado rápido y las vidas medias cortas. Por ejemplo, GLP-1 (7-37) tiene una vida media del suero de únicamente 3 a 5 minutos. La amida de GLP-1 (7-36) tiene una acción de tiempo de aproximadamente 50 minutos cuando se administra de manera subcutánea. Aún análogos y derivados que son resistentes a la escisión de proteasa endógena, no tienen vidas medias lo suficientemente largas para evitar administraciones repetidas durante un periodo de 24 horas. Por ejemplo, exenatida es resistente a DPP-IV, todavía requiere dosificaciones preprandiales diarias dobles debido a la vida media corta y la variabilidad significativa en farmacocinéticas *in vivo*. NN2211, otro compuesto actualmente en pruebas clínicas, es un análogo de GLP-1 lipidado. Se espera que se dosifique una vez al día.

Para el clarificado de un agente terapéutico es conveniente en casos donde se desea mantener un alto nivel en sangre del agente durante un periodo prolongado de tiempo ya que administraciones repetidas entonces serán necesarias. Adicionalmente, un compuesto de acción duradera es particularmente importante para pacientes diabéticos cuyo régimen de tratamiento pasado se ha involucrado tomando solamente medicamento oral. Estos pacientes a veces tienen un tiempo extremadamente difícil de transición a un régimen que involucra inyecciones múltiples de medicamento. Una terapia de GLP-1 que tiene una vida media incrementada puede tener una ventaja significativa sobre otros péptidos de GLP-1 y compuestos en el desarrollo.

En consecuencia, hay una necesidad de proveer versiones mejoradas y/o modificadas de proteínas terapéuticas de GLP-1, que supera uno más de estos y otros problemas conocidos en la técnica. La tecnología de mimeticuerpo provee una plataforma de suministro novedosa para terapéuticos peptídicos. Un mimeticuerpo de GLP-1 puede proveer un medio de suministro del péptido de GLP-1 de una manera sostenida, proporcionando una mejora sobre los péptidos de GLP-1 actualmente en desarrollo. Adicionalmente, en base en su estructura dimérica y sus características distribución de tejido, un mimeticuerpo de GLP-1 puede tener características diferenciables con respecto a secreción de insulina, la conservación de células β, e ingesta de alimentos.

BREVE DESCRIPCION DE LA INVENCION

La presente invención provee mimeticuerpos de GLP-1 de humano mejorados, incluyendo inmunoglobulinas modificadas, productos de escisión y otras porciones especificadas y variantes de los mismos, así como composiciones de mimeticuerpo de GLP-1, que codifican o son ácidos nucleicos complementarios, vectores, células hospederas, composiciones, formulaciones, dispositivos, animales transgénicos, plantas transgénicas y métodos de elaboración y uso de los mismos, como se describe y/o permite en la presente, en combinación con lo que se conoce en la técnica.

Preferiblemente, dichos mimeticuerpos de GLP-1 se mejoran para expresión, purificación y/o estabilidad al cambiar los sitios de glicosilación O-enlazados (tales como, pero sin limitación, Val-Xaa-Ser) a sitios de glicosilación N-enlazados (tales como, pero sin limitación, Asn-Xaa-Ser o Gln-Xaa-Ser). La presente invención provee mejoras a mimeticuerpos suprimidos CH1 GLP-1 (por ejemplo, alanina) o sitios de o-glicosilación, tales como, pero sin limitación, a la secuencia val-Xaa-Ser, se pueden sustituir con sitios de N-glicosilación, tales como Asn-Xaa-Ser o Gln-Xaa-Ser, como se prefiera, por ejemplo, pero sin limitación, como se realiza en los siguientes residuos presentados en el listado de secuencia: Val-Xaa-Ser (sitio O-glicosilación) cambia al sitio de N-glicosilación Asn-Xaa-Ser en: posición 44 en SEQ ID NOS: 2, 4, 7-14, posición 64 en SEQ ID NOS: 43, 45, posición 82 en SEQ ID NOS: 44, 46 y 51; posición 88 en SEQ ID NOS: 48, 50, 53-55,

posición 89 en SEQ ID NO: 47, posición 90 en SEQ ID NO: 49; posición 103 y/o 185 en SEQ ID NOS: 56 y 63; o posición 39 en SEQ ID NOS: 60 y 61; posición 79 en SEQ ID NO: 64 o cualquier otra posición adecuada como se describe aquí o como se conoce en la técnica).

La presente invención también provee al menos un mimeticuerpo de GLP-1 aislado o porción especificada o variante como se describe aquí y/o como se conoce en la técnica. El mimeticuerpo de GLP-1 puede comprender opcionalmente al menos una región CH3 directamente enlazada con al menos una región CH2 directamente enlazada con al menos una porción de al menos un región de bisagra o fragmento de la misma (H), directamente enlazada con al menos una región variable parcial (V), directamente enlazada con una secuencia enlazadora opcional (L), directamente enlazada a por lo menos un péptido terapéutico (P) de GLP-1.

En una modalidad preferida un par de una secuencia de región V parcial de bisagra CH3-CH2-enlazador-secuencia peptídica terapéutica, el par enlazado opcionalmente por medio de asociación o enlace covalente, tal como, pero sin limitación, al menos un enlace disulfuro Cys-Cys o al menos un CH4 u otra secuencia de inmunoglobulina. En una modalidad, un mimeticuerpo de GLP-1 comprende la fórmula (I):

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

en donde P es al menos un péptido de GLP-1 bioactivo, variante o derivado, L es al menos una secuencia enlazadora, que puede ser un polipéptido que provee flexibilidad estructural al permitir que el mimeticuerpo

tener orientaciones alternas y propiedades de unión, V es al menos una porción de una C-terminal de una región variable de inmunoglobulina, H es al menos una porción de una región de bisagra variable de inmunoglobulina, CH2 es al menos una porción de una región constante CH2 de inmunoglobulina, CH3 es al menos una porción de una región constante CH3 de inmunoglobulina, n es un número entero de 1 a 10, y o, p, q, r, s y t pueden ser independientemente un número entero de 0 a 10, imitando tipos diferentes de moléculas de inmunoglobulina, por ejemplo, pero sin limitación a IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1, IgA2, IgM, IgD, IgE, o cualquier subclase de los mismos, y lo similar, o cualquier combinación de los mismos.

La región variable de la secuencia de anticuerpo puede ser, pero sin limitación, al menos una porción de al menos una de SEQ ID NOS: 47-55, o sus fragmentos como se describe en el cuadro 1 o SEQ ID NOS: 47-64, opcionalmente comprendiendo adicionalmente al menos una sustitución, inserción o supresión como se describe adicionalmente en las figuras 1-9 de la publicación PCT WO05/05604 (PCT US04/19898) presentada el 24 de junio de 2004 y publicada el 20 de enero de 2005, con SEQ ID NOS: 1-9 correspondientes. CH2, CH3 y la región de bisagra puede ser, pero sin limitación, al menos una porción de al menos una de SEQ ID NOS: 56-64, o fragmento de las mismas como se describe en el cuadro 1, opcionalmente comprendiendo adicionalmente al menos una sustitución, inserción o supresión como se describe adicionalmente en las figuras 32-40 de la publicación PCT WO 05/05604 (PCT US04/19898) presentada el 24 de junio

de 2004 y publicada el 20 de enero de 2005, con SEQ ID NOS: 32-40 correspondientes.

De este modo, un mimeticuerpo de GLP-1 de la presente invención imita al menos una porción de un anticuerpo o estructura de inmunoglobulina o función con sus propiedades inherentes y funciones, mientras provee un péptido terapéutico de GLP-1 y sus propiedades o actividades *in vitro*, *in vivo* o *in situ* inherentes o adquiridas. Las varias porciones del anticuerpo y porciones de péptido terapéutico de mimeticuerpo de GLP-1 de la presente invención pueden variar como se describe aquí en combinación con lo que se sabe en la técnica.

La presente invención también provee al menos un mimeticuerpo de GLP-1 aislado o porción especificada o variante que tiene al menos una actividad, tal como, pero sin limitación, actividades biológicas conocidas de al menos un péptido de GLP-1 bioactivo o polipéptido correspondiente a la porción P de fórmula (I), como se describe aquí o se sabe en la técnica.

En un aspecto, la presente invención provee al menos un mimeticuerpo de GLP-1 humano aislado que comprende al menos una secuencia polipeptídica de SEQ ID NO: 1, u opcionalmente con una o más sustituciones, supresiones o inserciones como se describe aquí o como se conoce en la técnica. En otro aspecto, al menos un mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o variante de la invención imita la unión de al menos un péptido de GLP-1 o polipéptido correspondiente a la porción P del mimeticuerpo en la fórmula (I), a por lo menos un epítope que comprende al

menos 1-3, a la secuencia de aminoácido completa de al menos un ligando, por ejemplo, pero sin limitación, un receptor de GLP-1, o fragmento del mismo, en donde el ligando se une a por lo menos una porción de SEQ ID NO: 1, u opcionalmente con una o más sustituciones, supresiones o inserciones como se describe aquí o como se sabe en la técnica. El al lo menos un mimeticuerpo de GLP-1 puede opcionalmente unir el receptor de GLP-1 con una afinidad de al menos 10^{-7}, al menos 10^{-8}, al menos 10^{-9} M, al menos 10^{-10} M, al menos 10^{-11}M o al menos 10^{-12} M. Un mimeticuerpo de GLP-1 puede de este modo clasificarse para una actividad correspondiente de acuerdo a métodos conocidos, tales como, pero sin limitación, la actividad de unión hacia un receptor o fragmento del mismo.

La presente invención provee adicionalmente un anticuerpo anti-idiotipo a por lo menos un mimeticuerpo de GLP-1 de la presente invención. El anticuerpo de anti-idiotipo o fragmento específicamente une al menos un mimeticuerpo de GLP-1 de la presente invención. El anticuerpo anti-idiotipo incluye cualquier porción o péptido que contiene una molécula que comprende al menos una porción de una molécula de inmunoglobulina, tal como, pero sin limitación, al menos una región determinante de complementariedad (CDR) de una cadena pesada o ligera o una porción de unión al ligando de la misma, una región variable de cadena pesada o cadena ligera, una región constante de cadena pesada o cadena ligera, una región de marco, o cualquier porción de las mismas, que une de manera competitiva una región de unión al ligando de GLP-1 de al menos un mimeticuerpo de GLP-1 de la presente invención.

Dichos anticuerpos de idiotipo de la invención pueden incluir o derivarse de cualquier mamífero, tal como pero sin limitación, humano, un ratón, un conejo, una rata, un roedor, un primate, y lo similar.

La presente invención provee, en un aspecto, moléculas de ácido nucleico aislado que comprenden, complementariedad, que tienen identidad significativa o hibridación significativa a, un polinucleótido que codifica al menos un mimeticuerpo de GLP-1 o un anticuerpo anti-idiotipo mimeticuerpo de GLP-1, o porciones especificadas o variantes de las mismas, que comprenden al menos una secuencia especificada, dominio, porción o variante de la misma. La presente invención provee adicionalmente vectores recombinantes que comprenden al menos uno de dicho mimeticuerpo de GLP-1 aislado o anticuerpo anti-idiotipo de mimeticuerpo de GLP-1 que codifican las moléculas de ácido nucleico, células hospederas que contienen dichos ácidos nucleicos y/o vectores recombinantes, así como métodos para la elaboración y/o uso de dicho mimeticuerpo de GLP-1 o ácidos nucleicos de anticuerpo anti-idiotipo de mimeticuerpo de GLP-1, vectores y/o células hospederas.

También se provee un ácido nucleico aislado que codifica al menos un mimeticuerpo de GLP-1 de mamífero aislado o anticuerpo anti-idiotipo de mimeticuerpo de GLP-1; un vector de ácido nucleico aislado que comprende el ácido nucleico aislado, y/o una célula hospedera procariótica o eucariótica que comprende el ácido nucleico aislado. La célula hospedera opcionalmente puede ser al menos una seleccionada de COS-1, COS-7,

HEK293, BHK21, CHO, BSC-1, Hep G2, 653, SP2/0, 293, HeLa, mieloma o células de linfoma, o cualquier derivado, célula inmortalizada o transformada de las mismas.

La presente invención también provee al menos un método para la expresión de al menos un mimeticuerpo de GLP-1 o anticuerpo anti-idiotipo de mimeticuerpo de GLP-1, o porción especificada o variante en una célula hospedera, que comprende el cultivo de una célula hospedera como se describe aquí y/o como se sabe en la técnica bajo condiciones en donde al menos un mimeticuerpo de GLP-1 o anticuerpo de anti-idiotipo de mimeticuerpo de GLP-1, o porción especificada o variante se expresa en cantidades detectables y/o recuperables. También se provee un método para la producción de al menos un mimeticuerpo de GLP-1 o anticuerpo de anti-idiotipo de mimeticuerpo de GLP-1, que comprende la traducción del mimeticuerpo de GLP-1 o ácido nucleico que codifica anticuerpo de anti-idiotipo de mimeticuerpo de GLP-1 bajo condiciones *in vitro*, *in vivo* o *in situ*, tal como el mimeticuerpo de GLP-1 o anticuerpo de anti-idiotipo de mimeticuerpo de GLP-1 se expresa en cantidades detectables o recuperables.

También se provee un método para la producción de al menos un mimeticuerpo de GLP-1 de humano aislado o anticuerpo de ani-idiotipo de GLP-1 de la presente invención, que comprende proveer una célula hospedera o animal transgénico o planta transgénica capaz de expresar en cantidades recuperables el mimeticuerpo de GLP-1 o anticuerpo de anti-idiotipo de GLP-1.

Además se provee en la presente invención al menos un mimeticuerpo de GLP-1 producido por medio de los métodos anteriores.

La presente invención también provee al menos una composición que comprende (a) un mimeticuerpo de GLP-1 aislado o porción especificada o variante que codifica el ácido nucleico y/o mimeticuerpo de GLP-1 como se describe aquí; y (b) un portador o diluyente adecuado. El portador o diluyente opcionalmente puede ser farmacéuticamente aceptable, de acuerdo a métodos conocidos. La composición opcionalmente puede comprender adicionalmente al menos un componente adicional, proteína o composición.

También se provee una composición que comprende al menos un mimeticuerpo de GLP-1 de humano aislado y al menos un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable. La composición opcionalmente puede comprender además una cantidad efectiva de al menos un compuesto o proteína seleccionada de al menos uno de una etiqueta o reportero detectable, un fármaco anti-infeccioso, un fármaco relacionado con la diabetes o metabolismo de insulina, fármaco del sistema cardiovascular (CV), un fármaco del sistema nervioso central (CNS), un fármaco del sistema nervioso autonómico (ANNS), un fármaco del tracto respiratorio, un fármaco del tracto gastrointestinal (GI), un fármaco hormonal, un fármaco para el balance de fluido o electrolito, un fármaco hematológico, un fármaco anti-neopláctico, un fármaco de inmunomodulación, un fármaco oftálmico, ótico o nasal, un fármaco tópico, un fármaco nutricional, un antagonista de TNF, un anti-

reumático, un relajante muscular, un narcótico, un fármaco anti-inflamatorio no esteroidal (NTHE), un analgésico, un anestésico, un sedante, un anestésico local, un bloqueador neuromuscular, un antimicrobiano, un antisoriático, un corticosteroide, un esteroide anabólico, una eritropoyetina, una inmunización, una inmunoglobulina, un inmunosupresor, una hormona del crecimiento, un fármaco de reemplazo hormonal, un radiofarmacéutico, un antidepresivo, un antimicótico, un estimulante, un médicamente contra el asma, un beta agonista, un esteroide inhalado, una epinefrina o análogo, una citiocina o un antagonista de citocina.

La presente invención también provee al menos una composición, dispositivo y/o método de suministro de una cantidad terapéuticamente o profilácticamente efectiva de al menos un mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o variante, de acuerdo a la presente invención.

La presente invención provee además al menos un método o composición de mimeticuerpo de GLP-1, para la administración de una cantidad terapéuticamente efectiva para modular o tratar al menos una condición relacionada con GLP-1 en una célula, tejido, órgano, animal o paciente y/o, antes de, posterior a, o durante una condición relacionada, como se sabe en la técnica y/o como se describe aquí.

La presente invención provee al menos un mimeticuerpo de GLP-1, porción especificada o variante en un método o composición, cuando se administra en una cantidad terapéuticamente efectiva, para modulación, tratamiento o reducción de los síntomas de, al menos una enfermedad

metabólica, inmune, cardiovascular, infecciosa, maligna, y/o neurológica en una célula, tejido, órgano, animal o paciente y/o, como se necesite en muchas condiciones diferentes, tales como pero sin limitación, antes de, posterior a, o durante una enfermedad relacionada o condición de tratamiento, como se sabe en la técnica.

La presente invención provee además al menos un mimeticuerpo de GLP-1, porción especificada o variante en un método o composición, cuando se administra en una cantidad terapéuticamente efectiva, para modulación, para tratamiento o reducción de los síntomas de al menos uno de diabetes o trastorno relacionado con el metabolismo de insulina, un trastorno óseo y de articulación, trastorno cardiovascular, trastorno dental u oral, un trastorno dermatológico, un trastorno del oído, nariz o garganta, un trastorno endocrino o metabólico, un trastorno gastrointestinal, un trastorno ginecológico, un trastorno hepático o biliar, un trastorno obstétrico, un trastorno hematológico, un trastorno inmunológico o alérgico, una enfermedad infecciosa, un trastorno musculoesquelético, un trastorno oncológico, un trastorno neurológico, un trastorno nutricional, un trastorno oftálmico, un trastorno pediátrico, un trastorno de envenenamiento, un trastorno psiquiátrico, un trastorno renal, un trastorno pulmonar, o cualquier otro trastorno conocido (ver, por ejemplo, The Merck Manual, 17a edición, Merck Research Laboratories, Merck y Co., Whitehouse Station, NJ (1999), incorporada totalmente aquí para referencia), como se necesite en muchas condiciones diferentes, tales como pero sin limitación, antes de, posterior a, o

durante una enfermedad relacionada o condición de tratamiento, como se conoce en la técnica.

La presente invención también provee al menos una composición, dispositivo y/o método de suministro, para el diagnóstico de condiciones relacionadas con GLP-1, de al menos un mimeticuerpo de GLP-1, de acuerdo a la presente invención.

La presente invención provee adicionalmente al menos un método o composición de mimeticuerpo de GLP-1, para el diagnóstico de al menos una condición relacionada con GLP-1 en una célula, tejido, órgano, animal o paciente y/o, antes de, posterior a, o durante una condición relacionada, como se sabe en la técnica y/o como se describe aquí.

También se provee un método para el diagnóstico o tratamiento de una condición de enfermedad en una célula, tejido, órgano o animal, que comprende: (a) poner en contacto o administrar una composición que comprende una cantidad efectiva de al menos un mimeticuerpo de GLP-1 de humano aislado de la invención con, o para, la célula, tejido, órgano o animal. El método opcionalmente puede comprender el uso de una cantidad efectiva de 0.001-50 mg/kilogramo de las células, tejido, órgano o animal por 0-24 horas, 1-7 días, 1-52 semanas, 1-24 meses, 1-30 años o cualquier intervalo o valor entre éste. El método opcionalmente puede comprender adicionalmente el uso del contacto o la administración por al menos un modo seleccionado de parenteral, subcutáneo, intramuscular, intravenoso, intrarticular, intrabronqueal, intraabdominal, intracapsular, intracartilaginoso, intracavitario,

intracelial, intracelebelar, intracerebroventricular, intracólico, intracervical, intragástrico, intrahepático, intramiocardial, intraosteal, intrapélvico, intrapericardiaco, intraperitoneal, intrapleural, intraprostático, intrapulmonar, intrarrectal, intrarrenal, intrarretinal, intraespinal, intrasinovial, intratorácico, intrauterino, intravesical, bolo, vaginal, rectal, bucal, sublingual, intranasal, o transdérmico. El método opcionalmente puede comprender adicionalmente la administración, antes, concurrentemente o después de (a) contactar o administrar, al menos una composición que comprende una cantidad efectiva de al menos un compuesto o proteína seleccionada de al menos uno de una etiqueta o reportero detectable, un fármaco anti-infectivo, un fármaco relacionado con el metabolismo de diabetes o insulina, un fármaco del sistema cardiovascular (CV), un fármaco del sistema nervioso central (CNS), un fármaco del sistema nervioso autonómico (ANS), un fármaco del tracto respiratorio, un fármaco del tracto gastrointestinal (GI), un fármaco hormonal, un fármaco de fluido o balance de electrolito, un fármaco hematológico, un antineopláctico, un fármaco de inmunomodulación, un fármaco oftálmico, ótico o nasal, un fármaco tópico, un fármaco nutricional, un antagonista de TNF, un anti-reumático, un relajante muscular, un narcótico, un fármaco anti-inflamatorio no esteroide (NSAID), un analgésico, un anestésico, un sedante, un anestésico local, un bloqueador neuromuscular, un antimicrobiano, un anti-soriático, un corticosteroide, un esteroide anabólico, una eritropoyetina, una inmunización, una inmunoglobulina, un inmusupresor, una hormona del crecimiento, un fármaco de reemplazo hormonal, un radiofarmacéutico, un

antidepresivo, un antipsicótico, un estimulante, un medicamento de asma, un beta agonista, un esteroide inhalado, una epinefrina o análogo, una citocina, o un antagonista de citocina.

También se provee un dispositivo médico, que comprende al menos un mimeticuerpo de GLP-1 de humano aislado de la invención, en donde el dispositivo es adecuado para contactar o administrar al menos un mimeticuerpo de GLP-1 por al menos un modo seleccionado de parenteral, subcutáneo, intramuscular, intravenoso, intrarticular, intrabronquial, intra-abdominal, intracapsular, intracartilaginoso, intracavitario, intracelial, intracelebelar, intracerebroventricular, intracólico, intracervical, intragástrico, intrahepático, intramiocardial, intraosteal, intrapélvico, intrapericardiaco, intraperitoneal, intrapleural, intraprostático, intrapulmonar, intrarrectal, intrarrenal, intrarretinal, intraespinal, intrasinovial, intratorácico, intrauterino, intravesical, bolo, vaginal, rectal, bucal, sublingual, intranasal, o transdérmico.

También se provee un artículo de elaboración para el uso farmacéutico o diagnóstico de humano, que comprende material de envasado y un contenedor que comprende una solución o una forma liofilizada de al menos un mimeticuerpo de GLP-1 de humano aislado de la presente invención. El artículo de elaboración opcionalmente puede comprender el tener el contenedor como un componente de un dispositivo o sistema de suministro parenteral, subcutáneo, intramuscular, intravenoso, intrarticular, intrabronquial, intra-abdominal, intracapsular, intracartilaginoso, intracavitario, intracelial, intracelebelar, intracerebroventricular, intracólico, intracervical,

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

La presente invención provee adicionalmente cualquier invención descrita aquí.

BREVE DESCRIPCION DE LOS DIBUJOS

La figura 1 ilustra las secuencias de nucleótido y péptido de MMB GLP-1 en un andamio IgG4 que muestra dominios funcionales importantes de SEQ ID NO: 4.

Las figuras 2A-2C ilustran ensayos de unión de FACS de MMB GLP-1. La figura 2A muestra que MMB GLP-1 se une a células HEK293 que sobre-expresan la GLP-1R. Área gris: MMB GLP-1 pero no secundario; línea gris: únicamente secundario; línea punteada, MMB control negativo y secundario; línea negra: MMB GLP-1 y secundario. La figura 2B muestra que el MMB GLP-1 no se une a las células HEK293 control. Área gris: MMB GLP-1 pero no secundario; línea negra: únicamente secundario; línea gris: MMB GLP-1 y secundario. La figura 2C muestra que un análogo de péptido de GLP-1 (A2S) es capaz de competir con MMB GLP-1 para unión a células HEK293 que sobre-expresan el GLP-1R. Área gris: MMB GLP-1 pero no secundario;

línea negra: MMB GLP-1 y secundario; línea de ruptura: MMB GLP-1, competidor 0.2 nM, secundario; línea punteada: MMB GLP-1, 20 nM competidor, secundario; línea gris: MMB GLP-1, competidor 100 nM, secundario).

Las figuras 3A-3E ilustran ensayos cAMP de MMB GLP-1. La figura 3A: MMB GLP-1 wt en andamio IgG1; la figura 3B: péptido de GLP-1; la figura 3C: MMB GLP-1 (A2G) en andamio IgG4 (Ala/Ala, Ser -> Pro); la figura 3D: andamio MMB GLP-1 (A2S) en IgG4 (Ala/Ala, Ser -> Pro); figura 3E: andamio MMB GLP-1 wt en IgG4 (Ala/Ala, Ser -> Pro).

La figura 4 ilustra la resistencia de MMB GLP-1 para la escisión de DPP-IV.

La figura 5 muestra la estabilidad de MMB GLP-1 en suero.

La figura 6 demuestra que MMB GLP-1 causa secreción de insulina en células RINm. La figura 6A muestra que el péptido GLP-1 (7-36) y péptido exendin-4 estimula la liberación de insulina en células RINm. La figura 6B muestra que MMB GLP-1 (A2S) en cualquier andamio IgG1 o IgG4 (Ala/Ala, Ser -> Pro) o andamio MMB GLP-1 (A2G) en IgG4 (Ala/Ala, Ser -> Pro) son activos en la estimulación de secreción de insulina en células RINm.

La figura 7 demuestra que MMB GLP-1 disminuye la glucosa (figura 7A) de una manera dependiente de la dosis (figura 7B).

La figura 8 muestra el perfil farmacocinético de cuatro MMB GLP-1 (A2G, A2S, Exp-cap y tipo silvestre) en monos cynomolgus.

La figura 9 muestra los efectos de MMB GLP-1 durante una

prueba de tolerancia a la glucosa oral en ratones diabéticos.

La figura 10 muestra los efectos de MMB GLP-1 en glucosa en sangre en ayunas durante dosificación crónica a ratones diabéticos.

La figura 11 muestra los efectos de MMB GLP-1 en prueba de tolerancia a la glucosa después de la dosificación crónica a ratones diabéticos.

La figura 12 muestra los efectos de MMB GLP-1 en la reducción de HbA1c después de dosificación crónica a ratones diabéticos.

La figura 13 muestra los efectos de MMB GLP-1 en glucosa en sangre (figura 13A) y niveles de insulina (figura 13B) en una prueba de tolerancia a la glucosa oral en monos cynomolgus normales.

La figura 14 muestra los efectos de MMB GLP-1 en tinción de insulina en isletas de ratones diabéticos después de una dosis sencilla.

La figura 15 demuestra que MMB GLP-1 retarda el vaciado gástrico en perros normales.

La figura 16 demuestra que MMB GLP-1 disminuye la glucosa en sangre después de una prueba de tolerancia a la glucosa oral en ratones obesos inducidos con dieta.

La figura 17 demuestra que MMB GLP-1 disminuye la glucosa en sangre (figura 17A) y disminuye el nivel de insulina (figura 17B) en una prueba de tolerancia a glucosa intraperitoneal en ratones diabéticos.

La figura 18A demuestra la respuesta de AMPc en células de rata INS-1E para incrementar las concentraciones de MMB GLP-1. Los datos

se ajustan a una hipérbola que provee una EC_{50} de 8.7 nM y una cantidad máxima de AMPc secretada de 48.3 nM.

La figura 18B demuestra la respuesta de AMPc en células de rata INS-1E para incrementar las concentraciones de péptido de GLP-1. Los datos se ajustan a una hipérbola que provee una EC_{50} de 0.11 nM y una cantidad máxima de AMPc secretada de 46.7 nM.

La figura 19 demuestra la secreción de insulina en células INS-1E de rata en concentraciones de incremento de MMB GLP-1.

La figura 20A demuestra niveles de MMB GLP-1 en plasma de rata después de administración iv sencilla y administración sc sencilla (3 mg/kg).

La figura 20B demuestra niveles de MMB GLP-1 en plasma de mono después de administración iv sencilla (1 mg/kg).

La figura 21A demuestra ipGTT en ratones DIO dosificados con MMB GLP-1.

La figura 21B demuestra el área calculada bajo la curva (AUC) para ipGTT presentado en la figura 1.

La figura 21C demuestra los datos de la figura 2 se ajustan a una hipérbola, proporciona un ED_{50} de 15 μg/kg.

Las figuras 22A y 22B demuestran una ingesta de alimentos acumulativa de 24 horas en ratones tipo silvestre (A) y GLP-1R-/- (B) tratados con una dosis iv sencilla de CNTO 1996 (1 mg/kg), exendin-4 (0.07 mg/kg) y MMB GLP-1 (1 mg/kg). Los valores representan la media ± SE; * $p< 0.05$ vs.

grupo tratado con CNTO1996.

Las figuras 23A, 23B y 23C demuestran una prueba de tolerancia a glucosa en ratones tipo silvestre (A) y GLP-1R-/- (B) ratones después de una dosis iv sencilla de CNTO 1996 (1 mg/kg), exendin-4 (0.07 mg/kg) y MMB GLP-1 (1 mg/kg). (C) área bajo la curva para las pruebas ipGTT en ratones tipo silvestre (barra negra) y ratones GLP-1R-/- (barra gris). Valores representan media ± SE; * $p < 0.05$ vs. grupo tratado con CNTO1996.

La figura 24 demuestra el contenido del estómago en ratones tipo silvestre (barras negras) y GLP-1R-/- (barras grises) tratados con CNTO1996 (1 mg/kg), exendin-4 (0.07 mg/kg) y MMB GLP-1 (1 mg/kg). Los valores representan media ± SE; * $p < 0.05$ vs. grupo tratado con CNTO1996.

La figura 25 demuestra una prueba de tolerancia a la glucosa en ratones DIO realizada en varios puntos del tiempo después de la administración iv sencilla de un MMB GLP-1 (1 mg/kg).

La figura 26 demuestra el área bajo la curva para datos obtenidos durante el ipGTT en ratones DIO (figura 25).

La figura 27 demuestra niveles de MMB GLP-1 en plasma de ratones DIO después de la administración sencilla iv (1 mg/kg).

La figura 28 demuestra el área bajo la curva para la prueba de tolerancia a la glucosa después de la administración sencilla iv de un MMB GLP-1 (1 mg/kg) graficado como una función de la concentración de plasma MMB GLP-1 inmediatamente después de la prueba de tolerancia a la glucosa.

DESCRIPCION DETALLADA DE LA INVENCION

La presente invención provee mimeticuerpos aislados, recombinantes y/o sintéticos o porciones especificadas o variantes, así como composiciones y moléculas de ácido nucleico de codificación que comprenden al menos un polinucleótido que codifica al menos un mimeticuerpo de GLP-1. Dichos mimeticuerpos o porciones especificadas o variantes de la presente invención comprenden secuencias de mimeticuerpo de GLP-1 específico, dominios, fragmentos y variantes especificadas de los mismos, y métodos para la elaboración y uso de dichos ácidos nucleicos y mimeticuerpos o porciones especificadas o variantes, incluyendo composiciones terapéuticas, métodos y dispositivos.

Preferiblemente, dichos mimeticuerpos de GLP-1 se mejoran para expresión, purificación y/o estabilidad al cambiar los sitios de glicosilación O-enlazada (tal como, pero sin limitación, Val-Xaa-Ser) a sitios de glicosilación N-enlazados (tales como, pero sin limitación, Asn-Xaa-Ser o Gln-Xaa-Ser). La presente invención provee dichas mejoras a mimeticuerpos suprimidos CH1 GLP-1.

La presente invención también provee al menos un mimeticuerpo de GLP-1 aislado o porción especificada o variantes como se describen aquí y/o como se conoce en la técnica. El mimeticuerpo de GLP-1 puede comprender opcionalmente al menos una región CH3 directamente enlazada con al menos una región CH2 directamente enlazada con al menos una

porción de bisagra o fragmento de la misma (H), directamente enlazada con al menos una región variable parcial (V), directamente enlazada con una secuencia enlazadora opcional (L), directamente enlazada a por lo menos un péptido terapéutico (P) de GLP-1.

En una modalidad preferida, un mimeticuerpo de GLP-1 comprende la fórmula (I):

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

en donde P es al menos un polipéptido de GLP-1 bioactivo, L es al menos una secuencia enlazadora, que puede ser un polipéptido que provee flexibilidad estructural al permitir que el mimeticuerpo tenga orientaciones alternas y propiedades de unión, V es al menos una porción de una C-terminal de una región variable de inmunoglobulina, H es al menos una porción de una región de bisagra variable de inmunoglobulina, CH2 es al menos una porción de una región constante CH2 de inmunoglobulina, CH3 es al menos una porción de una región constante CH3 de inmunoglobulina, m, n, o, p, q, r, s y t pueden ser independientemente un número entero entre, e incluyendo 0 a 10, imitando diferentes tipos de moléculas de inmunoglobulina, por ejemplo, pero sin limitación a IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1, IgA2, IgM, IgD, IgE, o cualquier subclase de los mismos, y lo similar, o cualquier combinación de los mismos.

Preferiblemente, dichos mimeticuerpos de GLP-1 se mejoran para expresión, purificación y/o estabilidad al cambiar los sitios de glicosilación O-enlazados (tales como, pero sin limitación, Val-Xaa-Ser) a sitios de glicosilación N-enlazados (tales como, pero sin limitación, Asn-Xaa-

Ser o Gln-Xaa-Ser). La presente invención provee dichas mejoras a mimeticuerpos suprimidos CH1 GLP-1.

De este modo, un mimeticuerpo de GLP-1 de la presente invención imita una estructura de anticuerpo con sus propiedades inherentes y funciones, mientras provee un péptido terapéutico y sus propiedades o actividades *in vitro*, *in vivo* o *in situ* inherentes o adquiridas. En una modalidad preferida donde t = 1, el monómero CH3-CH2-bisagra-secuencia J parcial-enlazador-péptido terapéutico se puede enlazar a otros monómeros mediante asociación o enlace covalente, tal como, pero sin limitación, un enlace disulfuro Cys-Cys. Las varias porciones del anticuerpo y las porciones de péptido terapéutico GLP-1 de al menos un mimeticuerpo de GLP-1 de la presente invención puede variar como se describe aquí en combinación con lo que se conoce en la técnica.

La porción de CH3-CH2-bisagra se puede modificar extensivamente para formar una variante de acuerdo con esta invención, unión al receptor de salvamento se mantiene. En dichas variantes, uno puede remover uno o más sitios nativos que proveen características estructurales o actividad funcional no requeridas por medio de las moléculas de fusión de esta invención. Uno puede remover estos sitios, por ejemplo, al sustituir o suprimir residuos, insertar residuos en el sitio, o truncar porciones que contienen el sitio. Los residuos insertados o sustituidos también pueden ser aminoácidos alterados, tales como peptidomiméticos o aminoácidos D. Una variante de CH3-CH2-bisagra puede carecer de uno o más sitios nativos o

residuos que afectan o están involucrados en (1) formación de enlace disulfuro, (2) incompatibilidad con una célula hospedera seleccionada, (3) heterogeneidad en la expresión en una célula hospedera seleccionada, (4) glicosilación, (5) interacción con complemento, (6) unión a un receptor Fc diferente de un receptor de salvamento, o (7) citotoxicidad celular dependiente de anticuerpo (ADCC). Variantes de CH3-CH2-bisagra ejemplares incluyen moléculas y secuencias en donde: 1. Los sitios involucrados en la formación de enlace disulfuro se remueven. Dicha remoción puede evitar la reacción con otras proteínas que contienen cisteína presente en la célula hospedera usada para producir las moléculas de la invención. Para este propósito, los residuos de cisteína se pueden suprimir o sustituir con otros aminoácidos (por ejemplo, alanilo, serilo). Aún cuando los residuos de cisteína se remueven, los dominios de CH3-CH2-bisagra de cadena sencilla pueden formar todavía un dominio de CH3-CH2-bisagra dimérico que se mantiene junto no covalentemente; 2. La región de CH3-CH2 bisagra se modifica para hacerla más compatible con una célula hospedera seleccionada. Por ejemplo, cuando la molécula se expresa recombinantemente en una célula bacteriana tal como E. coli, uno puede remover la secuencia PA en la bisagra, que puede reconocerse por medio de una enzima digestiva en E. coli tal como prolina iminopeptidasa; 3. Una porción de la región de bisagra se suprime o sustituye con otros aminoácidos para prevenir heterogeneidad cuando se expresa en una célula hospedera seleccionada; 4. Uno o más sitios de glicosilación se remueven. Los residuos que son típicamente glicosilados (por ejemplo, valina

o asparagina) pueden conferir respuesta citolítica. Dichos residuos se pueden suprimir o sustituir con residuos no glicosilados (por ejemplo, alanina) o sitios de o-glicosilación, tales como, pero sin limitación, la secuencia Val-Xaa-Ser, se puede sustituir con sitios de N-glicosilación, tales como Asn-Xaa-Ser o Gln-Xaa-Ser, como se prefiera, por ejemplo, comos e realiza en los siguientes residuos presentados en el listado de secuencia: Val-Xaa-Ser (sitio de O-glicosilación) acmabia al sitio de N-glicosilación Asn-Xaa-Ser en: posición 44 en SEQ ID NOS: 2, 4, 7-14, posición 64 en SEQ ID NOS: 43, 45, posición 82 en SEQ ID NOS: 44, 46 y 51; posición 88 en SEQ ID NOS: 48, 50, 53-55, posición 89 en SEQ ID NO: 47, posición 90 en SEQ ID NO: 49; posición 103 y/o 185 en SEQ ID NOS: 56 y 63; o posición 39 en SEQ ID NOS: 60 y 61; posición 79 en SEQ ID NO: 64 o cualquier otra posición adecuada como se describe aquí o como se conoce en la técnica); 5. Sitios involucrados en interacción con complemento, tales como el sitio de unión de C1q, se remueven. El reclutamiento complemento no puede ser conveniente para las moléculas de esta invención y se puede evitar con dicha variante; 6. Se remueven los sitios que afectan la unión a receptores Fc diferentes de un receptor de salvamento. La región CH3-CH2-bisagra puede tener sitios para la interacción con ciertos glóbulos blancos que no se requieren para las moléculas de fusión de la presente invención y se pueden remover; 7. El sitio ADCC se remueve. Los sitios ADCC se conocen en la técnica; ver, por ejemplo, Molec. Immunol. 29 (5): 633-9 (1992) con respecto a sitios ADCC en IgG1. Estos sitios, también, no se requieren para las moléculas de fusión de la

presente invención y se pueden remover.

El polipéptido enlazador provee flexibilidad estructural al permitir que el mimeticuerpo tenga orientaciones alternativas y propiedades de unión. Cuando está presente, su estructura química no es crítica. El enlazador preferiblemente se compone de aminoácidos enlazados juntos mediante enlaces peptídicos. De este modo, en modalidades preferidas, el enlazador se compone de 1 a 20 aminoácidos enlazados por medio de enlaces peptídicos, en donde los aminoácidos se seleccionan de 20 aminoácidos de origen natural. Algunos de estos aminoácidos se pueden glicosilar, como se entiende bien por aquellos con experiencia en la técnica. En una modalidad más preferida, los 1 a 20 aminoácidos se seleccionan de glicina, alanina, serina, prolina, asparagina, glutamina, y lisina. Aún más preferiblemente, un enlazador se compone de una mayoría de aminoácidos que no se obstruyen estéricamente, tal como glicina y alanina. De este modo, enlazadores preferidos son poly(Gly-Ser), poliglicinas (particularmente $(Gly)_4$, $(Gly)_5$), poly(Gly-Ala), y polialaninas. Otros ejemplos específicos de enlazadores son: $(Gly)_3Lys(Gly)_4$ (SEQ ID NO:65), $(Gly)_3AsnGlySer(Gly)_2$ (SEQ IDNO: 66), $(Gly)_3Cys(Gly)_4$ (SEQ ID NO:67), y GlyProAsnGlyGly (SEQ IDNO: 68).

Para explicar la nomenclatura anterior, por ejemplo, $(Gly)_3Lys(Gly)_4$ significa Gly-Gly-Gly-Lys-Gly-Gly-Gly-Gly. Combinaciones de Gly y Ala también se prefieren. Los enlazadores mostrados aquí son ejemplares; enlazadores dentro del alcance de esta invención pueden ser mucho mayores y pueden incluir otros residuos.

Los enlazadores no peptídicos también son posibles. Por ejemplo, enlazadores alquilo tales como -NH- $(CH_2)_s$-C(O)-, en donde s = 2-20 se pueden usar. Estos enlazadores alquilo se pueden sustituir adicionalmente por medio de cualquiera del grupo de obstrucción no estéricamente tal como alquilo inferior (por ejemplo, C_1-C_6) acilo inferior, halógeno (por ejemplo, Cl, Br), CN, NH2, fenilo, etc. Un enlazador no peptídico ejemplar es un enlazador PEG que tiene un peso molecular de 100 a 5000 kD, preferiblemente 100 a 500 kD. Los enlazadores peptídicos se pueden alterar para formar derivados de la misma manera como se describió anteriormente.

Como se usa aquí, un "péptido GLP-1", o "péptido de GLP-1, variante o derivado" puede ser al menos un péptido de GLP-1, fragmento de GLP-1, homólogo de GLP-1, análogo de GLP-1, o derivado de GLP-1. Un péptido de GLP-1 tiene de aproximadamente veinticinco a aproximadamente cuarenta y cinco amino ácidos de origen natural o no natural que tienen homología suficiente a GLP-1 nativo (7-37) de tal manera que exhiben actividad insulinotrópica al unirse al receptor de GLP-1 en células β en el páncreas. GLP-1 (7-37) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 15:

His-Ala-Glu-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Val-Ser-Ser-Tyr-Leu-Glu-Gly-Gln-Ala-Ala-Lys-Glu-Phe-Ile-Ala-Trp-Leu-Val-Lys-Gly-Arg-Gly.

Un fragmento de GLP-1 es un polipéptido obtenido después de la truncación de uno o más aminoácidos del N-terminal y/o C-terminal de GLP-1 (7-37) o un análogo o derivado del mismo. Un homólogo de GLP-1 es un péptido en donde uno o más aminoácidos se han agregado al N-terminal y/o

C-terminal de GLP-1 (7-37), o fragmentos o análogos de los mismos. Un análogo de GLP-1 es un péptido en donde uno o más aminoácidos de GLP-1 (7-37) se han modificado y/o sustituido. Un análogo de GLP-1 tiene suficiente homología a GLP-1 (7-37) o un fragmento de GLP-1 (7-37) de tal manera que el análogo tenga actividad insulinotrópica. Un derivado de GLP-1 se define como una molécula que tiene la secuencia de aminoácidos de un péptido de GLP-1, un homólogo de GLP-1 o un análogo de GLP-1, pero adicionalmente teniendo modificación química de uno o más de sus grupos secundarios de aminoácido, átomos de α-carbono, grupo amino terminal, o grupo ácido carboxílico terminal.

Numerosos fragmentos de GLP-1 activos, análogos y derivados se conocen en la técnica y cualquiera de estos análogos y derivados pueden ser también parte del mimeticuerpo de GLP-1 de la presente invención. Algunos análogos de GLP-1 y fragmentos de GLP-1 conocidos en la técnica se describen en la Patente de E.U.A. Nos. 5,118,666, 5,977,071, y 5,545,618, y Adelhorst, et al., *J. Biol. Chem.* 269:6275 (1994). Ejemplos incluyen, pero no se limitan a, GLP-1 (7-34), GLP-1 (7-35), GLP-1 (7-36), Gln9-GLP-1(7-37), D-Gln9-GLP-1(7-37), Thr16-Lys18-GLP-1 (7-37), y Lys18-GLP-1 (7-37).

Un "mimeticuerpo de GLP-1", "porción de mimeticuerpo de GLP-1", o "fragmento de mimeticuerpo de GLP-1" y/o "variante de mimeticuerpo de GLP-1" y lo similar tiene, imita o estimula al menos una actividad biológica, tal como pero sin limitarse a unión de ligando, *in vitro*, *in situ* y/o preferiblemente *in vivo*, de al menos un péptido de GLP-1, variante o derivado, tal como pero

sin limitarse a por lo menos uno de SEQ. ID NO: 1. Por ejemplo, un mimeticuerpo de GLP-1 adecuado, porción especificada, o variante también puede modular, incrementar, modificar, activar, al menos una señalización de receptor de GLP-1 u otra actividad medible o detectable.

Los mimeticuerpos de GLP-1 útiles en los métodos y composiciones de la presente invención se caracterizan mediante afinidad adecuada de unión a ligandos de proteína, por ejemplo, receptores de GLP-1, y opcionalmente y preferiblemente teniendo baja toxicidad. En particular, un mimeticuerpo de GLP-1, donde los componentes individuales, tales como la porción de región variable, región constante (sin una porción CH1) y cuadro, o cualquier porción de la misma (por ejemplo, una porción de las regiones J, D o V de la cadena pesada o ligera variable; al menos una porción de al menos una región de bisagra, la cadena pesada constante o cadena ligera, y lo similar) individualmente y/o colectivamente opcionalmente y preferiblemente posee inmunogenicidad baja, es útil en la presente invención. Los mimeticuerpos que se pueden usar en la invención se caracterizan opcionalmente por su capacidad para tratar pacientes durante periodos extendidos con alivio de bueno a excelente de síntomas y baja toxicidad. Inmunogenicidad baja y/o afinidad alta, así como otras propiedades no definidas, pueden contribuir a los resultados terapéuticos logrados. "Inmunogenicidad baja" se define aquí como respuestas significativas incrementadas HAMA, HACA o HAHA en menos de aproximadamente 75%, o preferiblemente menos de aproximadamente 50, 45, 40, 35, 30, 35, 20, 15, 10,

9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, y/o 1% de los pacientes tratados y/o surgimiento de títulos bajos en el paciente tratado (menos de aproximadamente 300, preferiblemente menos de aproximadamente 100 medido con un inmunoensayo de enzima antígeno doble) (ver, por ejemplo, Elliott et al., Lancet 344:1125-1127 (1994)).

Utilidad. Los ácidos nucleicos aislados de la presente invención se pueden usar para la producción de al menos un mimeticuerpo de GLP-1, fragmento o variante especificada del mismo, que se puede usar para tener efecto en una célula, tejido, órgano o animal (incluyendo mamíferos y humanos), para modular, tratar, aliviar, ayudar a prevenir la incidencia de, o reducir los síntomas de, al menos una condición relacionada con proteína, seleccionada de, pero sin limitación, al menos uno de un trastorno relacionado con diabetes, un trastorno relacionado con metabolismo de insulina, un trastorno o enfermedad inmune, un trastorno o enfermedad cardiovascular, un trastorno o enfermedad infecciosa, maligna, y/o neurológica, así como otras condiciones relacionadas con proteína conocidas o especificadas.

Dicho método puede comprender la administración de una cantidad efectiva de una composición o una composición farmacéutica que comprende al menos un mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o variante a una célula, tejido, órgano, animal o paciente en necesidad de dicha modulación, tratamiento, alivio, prevención, o reducción en los síntomas, efectos o mecanismos. La cantidad efectiva puede comprender una cantidad de aproximadamente 0.0001 a 500 mg/kg por administración sencilla o

múltiple, o para lograr una concentración de suero de 0.01-5000 μg/ml de concentración de suero por administración sencilla o múltiple, o cualquier intervalo efectivo o valor entre este, como se realiza y determina usando métodos conocidos, como se describe aquí o se conoce en las técnicas relevantes.

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

Mimeticuerpos de la presente invención

El mimeticuerpo de GLP-1 puede comprender opcionalmente al menos una región CH3 directamente enlazada con al menos una región CH2

directamente enlazada con al menos una porción de al menos un fragmento de región de bisagra (H), tal como comprendiendo al menos una región de bisagra central, directamente enlazada con al menos una región variable parcial (V), directamente enlazada con una secuencia enlazadora opcional (L), directamente enlazada a por lo menos un péptido terapéutico (P) de GLP-1. En una modalidad preferida, un par de un CH3-CH2-H-V-L-P se puede enlazar por medio de asociación o enlace covalente, tal como, pero sin limitarse a, un enlace disulfuro Cys-Cys. De este modo, un mimeticuerpo de GLP-1 de la presente invención imita una estructura de anticuerpo con sus propiedades y funciones inherentes, mientras provee un péptido terapéutico y sus propiedades o actividades *in vitro*, *in vivo* o *in situ* inherentes o adquiridas. Las varias porciones del anticuerpo y porciones peptídicas terapéuticas de al menos un mimeticuerpo de GLP-1 de la presente invención pueden variar como se describe aquí en combinación con lo que se sabe en la técnica.

Los mimeticuerpos de la presente invención proveen de este modo al menos una propiedad adecuada en comparación a las proteínas conocidas, tales como, pero sin limitarse a, por lo menos una de vida media incrementada, actividad incrementada, actividad más específica, fuerza incrementada, tasa incrementada o disminuida, un subconjunto seleccionado o más adecuado de actividades, inmunogenicidad menor, calidad incrementada o duración de al menos un efecto terapéutico deseado, efectos secundarios deseados, y lo similar.

Fragmentos de mimeticuerpos de acuerdo a la fórmula (I) se

pueden producir mediante escisión enzimática, técnicas sintéticas o recombinantes, como se conoce en la técnica y/o como se describe aquí. Los mimeticuerpos también se pueden producir en una variedad de formas truncadas usando genes de anticuerpo en donde uno o más codones de interrupción se han introducido corriente arriba del sitio de interrupción natural. Las varias porciones de mimeticuerpos se pueden unir juntos químicamente por medio de técnicas convencionales, o se pueden preparar como una proteína como una proteína contigua usando técnicas de diseño genético. Por ejemplo, un ácido nucleico que codifica al menos una de las regiones constantes de una cadena de anticuerpo de humano se puede expresar para producir una proteína contigua para usarse en mimeticuerpos de la presente invención. Ver, por ejemplo, Ladner *et al.,* Patente de E.U.A. No. 4,946,778 y Bird, R.E. *et al., Science, 242:* 423-426 (1988), con respecto a anticuerpos de cadena sencilla.

Como se usa aquí, el término "mimeticuerpo de humano" se refiere a un anticuerpo en donde sustancialmente cada parte de la proteína (por ejemplo, péptido GLP-1, dominios C_H (por ejemplo, C_H2, C_H3), bisagra, V) se espera no sea inmunogénica sustancialmente en humanos con únicamente cambios o variaciones menores de secuencia. Dichos cambios o variaciones opcionalmente y preferiblemente retienen o reducen la inmunogenicidad en humanos en relación a anticuerpos de humano no modificado, o mimeticuerpos de la presente invención. De este modo, un anticuerpo de humano y mimeticuerpo de GLP-1 correspondiente de la presente invención

es distinto de un anticuerpo quimérico o humanizado. Se señala que el mimeticuerpo de GLP-1 se puede producir por medio de un animal no humano o célula que es capaz de expresar genes de inmunoglobulina humana (por ejemplo cadena pesada y/o cadena ligera).

Los mimeticuerpos humanos que son específicos para al menos un ligando de proteína de los mismos se pueden diseñar contra un ligando apropiado, tal como un receptor de GLP-1 aislado, o una porción del mismo (incluyendo moléculas sintéticas, tales como péptidos sintéticos). Preparación de dichos mimeticuerpos se realizan usando técnicas conocidas para identificar y caracterizar regiones de unión de ligando o secuencias de al menos una proteína o porción de la misma.

En una modalidad preferida, al menos un mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o variante de la presente invención se produce por al menos una línea celular, línea celular mezclada, célula inmortalizada o población clonal de células inmortalizadas y/o cultivadas. Células de producción de proteína inmortalizada se pueden producir usando métodos adecuados. Preferiblemente, el al menos un mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o variante se genera al proveer ácido nucleico o vectores que comprenden ADN derivado o que tiene una secuencia similar sustancialmente a, por lo menos un locus de inmunoglobulina humana que es dispuesta nuevamente funcionalmente, o que puede experimentar nueva disposición funcional, y que comprende adicionalmente una estructura de mimeticuerpo como se describe aquí, por ejemplo, pero sin limitación a la fórmula (I), en

donde las porciones de regiones variables C-terminal se pueden usar para V, regiones bisagra para H, CH2 para CH2 y CH3 para CH3, como se sabe en la técnica.

El término "nueva disposición funcionalmente", como se usa aquí se refiere a un segmento de ácido nucleico de un locus de inmunoglobulina que ha experimentado recombinación V(D)J, produciendo de este modo un gen de inmunoglobulina que codifica una cadena de inmunoglobulina (por ejemplo, cadena pesada), o cualquier porción de la misma. Un gen de inmunoglobulina dispuesto nuevamente funcionalmente se puede identificar directamente o indirectamente usando métodos adecuados, tales como, por ejemplo, secuenciación de nucleótidos, hibridación (por ejemplo, Southern blotting, Northern blotting) usando sondas que pueden templar para juntas de codificación entre segmentos génicos o amplificación enzimática de genes de inmunoglobulina (por ejemplo, reacción en cadena polimerasa) con iniciadores que pueden templar para codificar uniones entre segmentos génicos. Ya sea que una célula produzca un mimeticuerpo de GLP-1 o porción o variante que comprende una región variable particular o una región variable que comprende una secuencia particular (por ejemplo, al menos una secuencia P) también se puede determinar usando métodos adecuados.

Los mimeticuerpos, porciones especificadas y variantes de la presente invención también se pueden preparar usando al menos un mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o variante que codifica ácido nucleico para proveer animales o mamíferos transgénicos, tales como cabras,

vacas, caballos, carnero, y lo similar, que produce dichos mimeticuerpos o porciones especificadas o variantes en su leche. Dichos animales se pueden proveer usando métodos conocidos como se aplica para secuencias de codificación de anticuerpo. Ver, por ejemplo, pero sin limitación, Patentes de E.U.A. Nos. 5,827,690; 5,849,992; 4,873,316; 5,849,992; 5,994;616; 5,565,362; 5,304,489, y lo similar, cada una de las cuales se incorpora completamente aquí para referencia.

Los mimeticuerpos, porciones especificadas y variantes de la presente invención se pueden preparar adicionalmente usando al menos un mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o variante que codifica ácido nucleico para proveer células de plantas transgénicas y de planta cultivada (por ejemplo, pero sin limitación a tabaco y maíz) que producen dichos mimeticuerpos, porciones especificadas o variantes en las partes de la planta o en células cultivadas de ahí. Como un ejemplo no limitante, hojas de tabaco transgénico que expresan proteínas recombinantes se han usado exitosamente para proveer cantidades grandes de proteínas recombinantes, por ejemplo, usando un promotor inducible. Ver, por ejemplo, Cramer et al., Curr. Top. Microbol. Immunol. 240:95-118 (1999) y referencias citadas aquí. También, maíz transgénico o cereal se han usado para expresar proteínas de mamífero en niveles de producción comercial, con actividades biológicas equivalentes a aquellas producidas en otros sistemas recombinantes o purificadas de fuentes naturales. Ver, por ejemplo, Hood et al., Adv. Exp. Med. Biol. 464:127-147 (1999) y referencias citadas aquí. Los anticuerpos también

se han producido en grandes cantidades de semillas de planta transgénica incluyendo fragmentos de anticuerpo, tal como mimeticuerpos de cadena sencilla (scFv), incluyendo semillas de tabaco y tubérculos de papa. Ver, por ejemplo, Conrad et al., Plant Mol. Biol. 38:101-109 (1998) y referencias citadas aquí. De este modo, mimeticuerpos, porciones especificadas y variantes de la presente invención también se pueden producir usando plantas transgénicas, de acuerdo a métodos conocidos. Ver también, por ejemplo, Fischer et al., Biotechnol. Appl. Biochem. 30:99-108 (Oct., 1999), Ma et al., Trends Biotechnol. 13:522-7 (1995); Ma et al., Plant Physiol. 109:341-6 (1995); Whitelam et al., Biochem. Soc. Trans. 22:940-944 (1994); y referencias citadas aquí. Las referencias anteriores se incorporan completamente aquí para referencia.

Los mimeticuerpos de la invención pueden unir los ligandos de proteína de humano con un intervalo amplio de afinidades (K'_D). En una modalidad preferida, al menos un mimeticuerpo de GLP-1 de humano de la presente invención opcionalmente puede unir al menos un ligando de proteína con alta afinidad. Por ejemplo, al menos un mimeticuerpo de GLP-1 de la presente invención puede unir al menos un ligando de proteína con un K_D igual o menor de aproximadamente 10^{-7} M o, más preferiblemente, con un K_D igual o menor de aproximadamente 0.1-9.9 (o cualquier intervalo o valor en este) x 10^{-7}, 10^{-8}, 10^{-9}, 10^{-10}, 10^{-11}, 10^{-12}, o 10^{-13} M o cualquier intervalo o valor en este.

La afinidad o avidez de un mimeticuerpo de GLP-1 para al

menos un ligando de proteína se puede determinar experimentalmente usando cualquier método adecuado, por ejemplo, como se usa para la determinación de afinidad o avidez de unión a anticuerpo-antígeno. (Ver, por ejemplo, Berzofsky, *et al.*, "Antibody-Antigen Interactions," En *Fundamental Immunology*, Paul, W. E., Ed., Raven Press: New York, NY (1984); Kuby, Janis *Immunology*, W. H. Freeman y Company: New York, NY (1992); y métodos descritos aquí). La afinidad medida de una interacción mimeticuerpo-ligando de GLP-1 particular puede variar si se mide bajo condiciones diferentes (por ejemplo, concentraciones salinas, pH). De este modo, las mediciones de afinidad y otros parámetros de unión a ligando (por ejemplo, K_D, K_a, K_d) se hacen preferiblemente con soluciones estandarizadas de mimeticuerpo de GLP-1 y ligando, y un regulador de pH estandarizado, tal como el regulador de pH descrito aquí o conocido en la técnica.

Moléculas de ácido nucleico

Usando la información provista aquí, tal como las secuencias de nucleótidos que codifican al menos 90-100% de los aminoácidos contiguos de al menos una de SEQ ID NOS: 1 y 6, así como al menos una porción de un anticuerpo, en donde las secuencias anteriores se insertan como la secuencia P de fórmula (I) para proveer un mimeticuerpo de GLP-1 de la presente invención, que comprende adicionalmente fragmentos especificados, variantes o secuencias consenso de los mismos, o un vector depositado que comprende al menos una de estas secuencias, una molécula de ácido

nucleico de la presente invención que codifica al menos un mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o variante se puede obtener usando métodos descritos aquí o como se conoce en la técnica.

Las moléculas de ácido nucleico de la presente invención pueden estar en la forma de ARN, tal como ARNm, ARNhn, ARNt o cualquier otra forma, o en la forma de ADN, incluyendo, pero sin limitación, ADNc y ADN genómico obtenido mediante clonación o producido sintéticamente, o cualquier combinación de los mismos. El ADN puede ser de triple cadena, de doble cadena o de cadena sencilla, o cualquier combinación de los mismos. Cualquier porción de al menos una cadena del ADN o ARN puede ser la cadena de codificación, también conocida como la cadena sentido, o puede ser la cadena sin codificación, también referida como la cadena anti-sentido.

Las moléculas de ácido nucleico aisladas de la presente invención pueden incluir moléculas de ácido nucleico que comprenden un cuadro de lectura abierta (ORF), opcionalmente con uno o más intrones, moléculas de ácido nucleico que comprenden la secuencia de codificación para un mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o variante; y moléculas de ácido nucleico que comprenden una secuencia nucleotídica sustancialmente diferente de aquellas descritas anteriormente pero que, debido a la degeneración del código genético, codifica todavía al menos un mimeticuerpo de GLP-1 como se describe aquí y/o como se conoce en la técnica. Por supuesto, el código genético es bien conocido en la técnica. De este modo, puede ser rutinario para una persona con experiencia en la técnica

generar dichas variantes de ácido nucleico degeneradas que codifican para un mimeticuerpo de GLP-1 específico o porción especificada o variantes de la presente invención. Ver, por ejemplo, Ausubel, et al, supra, y dichas variantes de ácido nucleico se incluyen en la presente invención.

Como se indica aquí, las moléculas de ácido nucleico de la presente invención que comprenden un ácido nucleico que codifica un mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o variante pueden incluir, pero sin limitación, aquellos que codifican la secuencia de aminoácido de un fragmento de mimeticuerpo de GLP-1, por sí mismo; la secuencia de codificación para el mimeticuerpo de GLP-1 completo o una porción del mismo; la secuencia de codificación para un mimeticuerpo de GLP-1, fragmento o porción, así como secuencias adicionales, tales como la secuencia de codificación de al menos una guía de señal o péptido de fusión, con o sin las secuencias de codificación adicional mencionada anteriormente, tal como al menos un intrón, junto con secuencias de no codificación, adicionales, incluyendo sin limitación, secuencias no codificación 5' y 3', tal como las secuencias no traducidas, transcritas que juegan una función en la transcripción , procesamiento de ARNm, incluyendo empalme y señales de poliadenilación (por ejemplo, - unión de ribosoma y estabilidad de ARNm); una secuencia de codificación adicional que codifica aminoácidos adicionales, tales como aquellos que proveen funcionalidades adicionales. De este modo, la secuencia que codifica un mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o variante se puede fusionar a una secuencia marcadora, tal como una

secuencia de codificación de un péptido que facilita la purificación del mimeticuerpo de GLP-1 fusionado o porción especificada o variante que comprende un fragmento o porción de mimeticuerpo de GLP-1.

Polinucleótidos que selectivamente hibridan a un polinucleótido como se describe aquí.

La presente invención provee ácidos nucleicos aislados que hibridan bajo condiciones de hibridación selectivas a un polinucleótido descrito aquí, u otros descritos aquí, incluyendo variantes especificadas o porciones de las mismas. De este modo, los polinucleótidos de esta modalidad se pueden usar para aislar, detectar, y/o cuantificar los ácidos nucleicos que comprenden dichos polinucleótidos.

Condiciones de hibridación de severidad baja o moderada típicamente son, pero no exclusivamente, empleadas con secuencias que tienen una identidad de secuencia reducida relativa a las secuencias complementarias. Las condiciones de severidad moderada y alta opcionalmente pueden emplearse para secuencias de identidad mayor. Las condiciones de baja severidad permiten hibridación selectiva de secuencias que tienen aproximadamente 40-99% de identidad de secuencia y se pueden emplear para identificar secuencias ortólogas o parálogas.

Opcionalmente, los polinucleótidos de esta invención codificarán al menos una porción de un mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o variante codificada por medio de los polinucleótidos descritos aquí. Los

polinucleótidos de esta invención incluyen secuencias de ácido nucleico que se pueden emplear para hibridación selectiva a un polinucleótido que codifica un mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o variante de la presente invención. Ver, por ejemplo, Ausubel, supra; Colligan, supra, cada una incorporada completamente aquí para referencia.

Construcción de ácidos nucleicos

Los ácidos nucleicos aislados de la presente invención se pueden elaborar usando (a) métodos recombinantes, (b) técnicas sintéticas, (c) técnicas de purificación, o sus combinaciones, como es bien sabido en la técnica.

Los ácidos nucleicos pueden comprender convenientemente secuencias además de un polinucleótido de la presente invención. Por ejemplo, un sitio de clonación múltiple que comprende uno o más sitios de restricción de endonucleasa se pueden insertar en el ácido nucleico para ayudar en el aislamiento del polinucleótido. También, secuencias traducibles se pueden insertar para ayudar en el aislamiento del polinucleótido traducido de la presente invención. Por ejemplo, una secuencia marcadora hexa-histidina provee un medio conveniente para purificar las proteínas de la presente invención. El ácido nucleico de la presente invención - excluyendo la secuencia de codificación- es opcionalmente un vector, adaptador, o enlazador para la clonación y/o expresión de un polinucleótido de la presente invención.

Secuencias adicionales se pueden añadir a dichas secuencias de clonación y/o expresión para optimizar su función en la clonación y/o expresión, para ayudar en el aislamiento del polinucleótido, o para mejorar la introducción del polinucleótido en una célula. El uso de vectores de clonación, vectores de expresión, adaptadores, y enlazadores es bien conocido en la técnica. Ver, por ejemplo, Ausubel, supra; o Sambrook, supra.

Métodos recombinantes para la construcción de ácidos nucleicos

Las composiciones de ácido nucleico aislado de esta invención, tales como ARN, ADNc, ADN genómico, o cualquier combinación de los mismos, se puede obtener de fuentes biológicas usando cualquier número de metodologías de clonación conocidas por aquellos con experiencia en la técnica. En algunas modalidades, las sondas de oligonucleótido que hibridan selectivamente, bajo condiciones de severidad adecuada, a los polinucleótidos de la presente invención se usan para identificar la secuencia deseada en un ADNc o genoteca de ADN genómico. El aislamiento de ARN, y construcción de ADNc y genotecas genómicas, es bien conocido por aquellos de experiencia ordinaria en la técnica. (Ver, por ejemplo, Ausubel, supra; o Sambrook, supra).

Métodos sintéticos para la construcción de ácidos nucleicos

Los ácidos nucleicos aislados de la presente invención también se pueden preparar mediante síntesis química directa a través de métodos

conocidos (ver, por ejemplo, Ausubel, et al., supra). La síntesis química generalmente produce un oligonucleótido de cadena sencilla, que se puede convertir en ADN de cadena doble mediante hibridación con una secuencia complementaria, o por medio de polimerización con un ADN polimerasa usando la cadena sencilla como una plantilla. Una persona con experiencia en la técnica reconocerán que mientras la síntesis química de ADN se puede limitar a secuencias de aproximadamente 100 o más bases, secuencias más grandes se pueden obtener mediante la ligación de secuencias más cortas.

Cartuchos de expresión recombinante

La presente invención provee además cartuchos de expresión recombinante que comprenden un ácido nucleico de la presente invención. Una secuencia de ácido nucleico de la presente invención, por ejemplo un ADNc o una secuencia genómica que codifica un mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o variante de la presente invención, se pueden usar para construir un cartucho de expresión recombinante que se puede introducir en al menos una célula hospedera deseada. Un cartucho de expresión recombinante típicamente comprenderá un polinucleótido de la presente invención enlazadas operablemente a secuencias reguladoras de iniciación transcripcional que dirigirán la transcripción del polinucleótido en la célula hospedera propuesta. Los promotores heterólogos y no heterólogos (es decir, endógeno) se pueden emplear para dirigir la expresión de los ácidos nucleicos de la presente invención.

En algunas modalidades, los ácidos nucleicos aislados que sirven como promotor, intensificador, u otros elementos se pueden introducir en la posición apropiada (corriente arriba, corriente abajo y en el intrón) de una forma no heteróloga de un polinucleótido de la presente invención para sobre- o sub-regular la expresión de un polinucleótido de la presente invención. Por ejemplo, promotores endógenos se pueden alterar *in vivo* o *in vitro* por medio de mutación, supresión y/o sustitución, como se conoce en la técnica. Un polinucleótido de la presente invención se puede expresar en una orientación sentido o anti-sentido como se desee. Se apreciará que el control de expresión génica en la orientación sentido o anti-sentido puede tener un impacto directo en las características observables. Otro método de supresión en la supresión sentido. La introducción de ácido nucleico configurado en la orientación sentido se ha mostrado que es un medio efectivo por medio del cual bloquea la transcripción de genes objetivo.

Vectores y células hospederas

La presente invención también se refiere a vectores que incluyen moléculas de ácido nucleico aisladas de la presente invención, células hospederas que generalmente se diseñan genéticamente con los vectores recombinantes, y la producción de al menos un mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o variante mediante técnicas recombinantes, como es bien sabido en la técnica. Ver, por ejemplo, Sambrook, et al., supra; Ausubel, et al., supra, cada una incorporada completamente aquí para referencia.

Los polinucleótidos opcionalmente se pueden unir a un vector que contiene un marcador seleccionable para la propagación en un hospedero. Generalmente, un vector plásmido se introduce en una célula usando métodos conocidos adecuados, tales como electroporación y lo similar, otros métodos conocidos incluyen el uso del vector como un precipitado, tal como un precipitado de fosfato de calcio, o en un complejo con un lípido cargado. Si el vector es un virus, puede ser envasado *in vitro* usando una línea celular de envasado y entonces se transduce en células hospederas.

El inserto de ADN puede ser enlazado operativamente a un promotor apropiado. Los constructos de expresión contendrán adicionalmente sitios opcionalmente para al menos uno de iniciación de transcripción, terminación y, en la región transcrita, un sitio de unión de ribosoma para la traducción. La porción de codificación de los transcriptos maduros expresados por los constructos preferiblemente incluirán una traducción de iniciación en el inicio y un codón de terminación (por ejemplo, UAA, UGA o UAG) apropiadamente colocados al final del ARNm a ser traducido, con UAA y UAG preferido para la expresión celular de mamífero o eucariótica.

Los vectores de expresión preferiblemente pero opcionalmente incluirán al menos un marcador seleccionable. Dichos marcadores incluirán, por ejemplo, pero sin limitación, metotrexato (MTX), dihidrofolato reductasa (DHFR, Patente de E.U.A. Nos. 4,399,216; 4,634,665; 4,656,134; 4,956,288; 5,149,636; 5,179,017, ampicilina, neomicina (G418), ácido micofenólico, o

glutamina sintetasa (GS, Patente de E.U.A. Nos. 5,122,464; 5,770,359; 5,827,739) resistencia para cultivo celular eucariótico, y genes de resistencia a tetraciclina o ampicilina para el cultivo en E. coli y otras bacterias o procarióticas (las patentes anteriores se incorporan completamente por la presente para referencia). Los medios y condiciones de cultivo apropiados para las células hospederas descritas anteriormente se conocen en la técnica. Vectores adecuados serán aparentes fácilmente para aquellos con experiencia en la técnica. La introducción de un constructo vector en una célula hospedera se puede efectuar por medio de transfección de fosfato de calcio, transfección mediada con DEAE-dextrano, transfección mediada con lípido catiónico, electroporación, transducción, infección u otros métodos conocidos. Dichos métodos se describen en la técnica, tal como Sambrook, supra, capítulos 1-4 y 16-18; Ausubel, supra, capítulos 1, 9, 13, 15, 16.

Al menos un mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o variante de la presente invención se puede expresar en una forma modificada, tal como una proteína de fusión, y puede incluir no solamente señales de secreción, sino también regiones funcionales heterólogas adicionales. Por ejemplo, una región de aminoácidos adicionales, particularmente aminoácidos cargados, se pueden añadir al N-terminal de un mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o variante para mejorar la estabilidad y persistencia en la célula hospedera, durante la purificación, o durante el manejo y almacenamiento posterior. También, los radicales peptídicos se pueden añadir a un mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o variante de la presente

invención para facilitar la purificación. Dichas regiones se pueden remover antes de la preparación final de un mimeticuerpo de GLP-1 o al menos un fragmento del mismo. Dichos métodos se describen en muchos manuales de laboratorio estándar, tal como Sambrook, supra, capítulos 17.29-17.42 y 18.1-18.74; Ausubel, supra, capítulos 16, 17 y 18.

Aquellos de experiencia ordinaria en la técnica están bien informados en los numerosos sistemas de expresión disponibles para la expresión de un ácido nucleico que codifica una proteína de la presente invención.

Ilustrativas de cultivos celulares útiles para la producción de los mimeticuerpos, porciones especificadas o variantes de los mismos, son células de mamífero. Los sistemas de células de mamífero a veces estarán en la forma de monocapas de células aunque las suspensiones de célula de mamífero o bio-reactores también se pueden usar. Un número de líneas celulares hospederas adecuadas capaces de expresar proteínas glicosiladas intactas se han desarrollado en la técnica, e incluyen las líneas celulares COS-1 (por ejemplo, ATCC CRL 1650), COS-7 (por ejemplo, ATCC CRL-1651), HEK293, BHK21 (por ejemplo, ATCC CRL-10), CHO (por ejemplo, ATCC CRL 1610, DG-44) y BSC-1 (por ejemplo, ATCC CRL-26), células hepG2, P3X63Ag8.653, SP2/0-Ag14, 293 células, células HeLa y lo similar, que son disponibles fácilmente de, por ejemplo Colección de cultivo tipo americano, Manassas, Va. Células hospederas preferidas de origen linfoide tales como células mieloma y linfoma. Particularmente células hospederas

preferidas son células P3X63Ag8.653 (Número de Acceso ATCC CRL-1580) y células SP2/0-Ag14 (Número de Acceso ATCC CRL-1851).

Los vectores de expresión para estas células pueden incluir una o más de las siguientes secuencias control de expresión, tales como, pero sin limitación, un origen de replicación; un promotor (por ejemplo, promotores SV40 tardíos y tempranos, el promotor CMV (por ejemplo la Patente de E.U.A. Nos. 5,168,062; 5,385,839), un promotor HSV tk, un promotor pgk (fosfoglicerato cinasa), un promotor alfa EF-1 (por ejemplo, la patente de E.U.A. No. 5,266,491), al menos un promotor de inmunoglobulina humana; un intensificador, y/o sitios de información de procesamiento, tales como sitios de unión a ribosoma, sitios de empalme de ARN, sitios de poliadenilación (por ejemplo, un sitio de adición T Ag Poli A largo SV40), y secuencias terminadoras transcripcionales. Ver por ejemplo, Ausubel et al., supra; Sambrook, et al., supra. Otras células útiles para la producción de ácidos nucleicos o proteínas de la presente invención son conocidas y/o disponibles, por ejemplo, del Catálogo de Colección de Cultivo Tipo Americano de Líneas Celulares e Hibridomas (www.atcc.org) u otras fuentes conocidas o comerciales.

Cuando las células huésped eucarióticas son empleadas, la poliadenilación o transcripción de las de secuencias terminadoras se incorporan usualmente en el vector. Un ejemplo de una secuencia terminadora es una secuencia de poliadenilación del gen de la hormona de crecimiento bovino. Las secuencias para un empalme exacto del transcripto

también se pueden incluir. Un ejemplo de una secuencia de empalme es el intrón VP1 de SV40 (Sprague, et al., J. Virol. 45:773-781 (1983)). De manera adicional, las secuencias genéticas para controlar la duplicación en la célula huésped se puede incorporar en el vector, como se conoce en la técnica.

Purificación de un mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o variante del mismo

Un mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o variante se puede recuperar y purificar a partir de cultivos celulares recombinantes por métodos bien conocidos, incluyendo, pero sin limitarse a, purificación de proteína A, precipitación de sulfato de amonio o etanol, extracción ácida, cromatografía de intercambio de anión o catión, cromatografía de fosfocelulosa, cromatografía de interacción hidrofóba, cromatografía de afinidad, cromatografía de hidroxilapatita y cromatografía de lectina. Cromatografía líquida de alto desempeño ("HPLC") también se puede emplear para purificación. Véase, por ejemplo, Colligan, Current Protocols in Immunology, o Current Protocols in Protein Science, John Wiley & Sons, NY, NY, (1997-2003), por ejemplo, capítulos 1, 4, 6, 8, 9, 10, cada uno incorporado totalmente aquí para referencia.

Mimeticuerpos o porciones especificadas o variantes de la presente invención incluyen productos purificados naturalmente, productos de procedimientos sintéticos químicos, y productos producidos mediante técnicas recombinantes de un huésped eucariótico, incluyendo, por ejemplo, células de

levadura, plantas superiores, insectos y mamíferos. Dependiendo del huésped empleado en un procedimiento de producción recombinante, el mimeticuerpo de GLP-1 o porción específica o variante de la presente invención puede ser glicosilado o puede ser no glicosilado, con glicosilado siendo preferido. Dichos métodos se describen en muchos manuales de laboratorio estándar, tal como Sambrook, supra, secciones 17.37-17.42; Ausubel, supra, capítulos 10, 12, 13, 16, 18 y 20, Colligan, Protein Science, supra, capítulos 12-14, todos totalmente incorporados aquí para referencia.

Mimeticuerpos, fragmentos especificados y/o variantes

Los mimeticuerpos aislados de la presente invención comprenden un anticuerpo GPL-1 o porción especificada o variante codificada por uno cualquiera de los polinucleótidos de la presente invención como se discute más completamente aquí, o cualquier mimeticuerpo de GLP-1 preparado o aislado o porción especificada o variante del mismo.

Preferiblemente, el mimeticuerpo de GLP-1 o porción de unión de ligando o variante se une por al menos un ligando de proteína GLP-1 y con lo cual provee al menos una actividad biológica GLP-1 de la proteína correspondiente o su fragmento. Diferentes proteínas terapéuticamente o diagnósticamente significantes son bien conocidas en la técnica y ensayos adecuados o actividades biológicas de dichas proteínas también son bien conocidos en la técnica.

Ejemplos no limitantes de péptidos GLP-1 adecuados, variantes

y derivados de esta invención aparecen como SEQ ID NO: 1: His-Xaa2-Xaa3-Gly-Xaa5-Xaa6-Xaa7-Xaa8-Xaa9-Xaa10-Xaa11-Xaa12-Xaa13-Xaa14-Xaa15-Xaa16-Xaa17-Xaa18-Xaa19-Xaa20-Xaa21-Phe-Xaa23-Xaa24-Xaa25-Xaa26-Xaa27-Xaa28-Xaa29-Xaa30-Xaa31, en donde Xaa2 es Ala, Gly, Ser, Thr, Leu, Ile, Val, Glu, Asp o Lys; Xaa3 es Glu, Asp o Lys; Xaa5 es Thr, Ala, Gly, Ser, Leu, Ile, Val, Arg, His, Glu, Asp o Lys; Xaa6 es Phe, His, Trp, o Tyr; Xaa7 es Thr o Asn; Xaa8 es Ser, Ala, Gly, Thr, Leu, Ile, Val, Glu, Asp, o Lys; Xaa9 es Asp o Glu; Xaa10 es Val, Gln, His, Glu o Lys; Xaa11 es Ser, Val, Ala, Gly, Thr, Leu, Ile, Glu, Asp o Lys; Xaa12 es Ser, Val, Ala, Gly, Thr, Leu, Ile, Glu, Asp o Lys; Xaa13 es Tyr, Gln, His, Glu o Lys; Xaa14 es Leu, Gln, His, Glu o Lys; Xaa15 es Glu, Ala, Thr, Ser, Gly, Gln, Asp o Lys; Xaa16 es Gly, Ala, Ser, Thr, Leu, Ile, Val, Gln, Asn, Arg, Cys, Glu, Asp o Lys; Xaa17 es Gln, Asn, Arg, His, Glu, Asp o Lys; Xaa18 es Ala, Gly, Ser, Thr, Leu, Ile, Val, Arg, Glu, Asp o Lys; Xaa19 es Ala, Gly, Ser, Thr, Leu, Ile, Val, Met, Glu, Asp o Lys; Xaa20 es Lys, Arg, His, Gln, Trp, Tyr, Phe, Glu o Asp; Xaa21 es Glu, Leu, Ala, His, Phe, Tyr, Trp, Arg, Gln, Thr, Ser, Gly, Asp o Lys; Xaa23 es Ile, Ala, Val, Leu o Glu; Xaa24 es Ala, Gln, His, Glu, o Lys; Xaa25 es Trp, Phe, Tyr, Glu, Asp o Lys; Xaa26 es Leu, Gly, Ala, Ser, Thr, Ile, Val, Glu, Asp o Lys; Xaa27 es Val, Gln, His, Glu, o Lys; Xaa28 es Lys, Asn, Arg, His, Glu o Asp; Xaa29 es Gly, Ala, Ser, Thr, Leu, Ile, Val, Arg, Trp, Tyr, Phe, Pro, His, Glu, Asp o Lys; Xaa30 es Arg, His, Thr, Ser, Trp, Tyr, Phe, Glu, Asp o Lys; y Xaa31 es Gly, Ala, Ser, Thr, Leu, Ile, Val, Arg, Trp, Tyr, Phe, His, Glu, Asp, Lys.

Otro grupo preferido de péptidos GLP-1, variantes o derivados se

ejemplifican en SEQ ID NO: 6: His-Xaa2-Xaa3-Gly-Thr-Xaa6-Xaa7-Xaa8-Xaa9-Xaa10-Ser-Xaa12-Tyr-Xaa14-Glu-Xaa16-Xaa17-Xaa18-Xaa19-Lys-Xaa21-Phe-Xaa23-Ala-Trp-Leu-Xaa27-Xaa28-Gly-Xaa30, en donde Xaa2 es Ala, Gly, o Ser; Xaa3 es Glu o Asp; Xaa6 es Phe o Tyr; Xaa7 es Thr o Asn; Xaa8 es Ser, Thr o Ala; Xaa9 es Asp o Glu; Xaa10 es Val, Gln, His, Glu o Lys; Xaa12 es Ser o Lys; Xaa 14 es Leu, Gln, His, Glu o Lys; Xaa16 es Gly, Ala, Glu o Asp; Xaa17 es Gln o Glu; Xaa18 es Ala o Lys; Xaa19 es Ala, Val, Ile, Leu o Met; Xaa21 es Glu o Leu; Xaa23 es Ile, Ala, Val, Leu o Glu; Xaa24 es Ala, Gln, His, Glu o Lys; Xaa27 es Val, Gln, His, Glu, o Lys; Xaa28 es Lys o Asn; y Xaa30 es Arg o Glu.

Estos péptidos se pueden preparar por métodos descritos y/o conocidos en la técnica. La Xaas en la secuencia (y a través de esta especificación, a menos que se especifique de otra manera en un ejemplo partícula) incluye residuos de aminoácido especificados, derivados o aminoácidos modificados de los mismos. Debido que la enzima, dipeptidil-peptidasa IV (DPP-IV) puede ser responsable de la inactivación *in vivo* rápida observada de GLP-1 administrado, péptidos GLP-1, homólogos, análogos y derivados que se protegen de la actividad de DPP-IV en el contexto de mimeticuerpo son preferidos.

Un mimeticuerpo de GLP-1, o porción especificada o variante del mismo, que parcialmente o preferiblemente sustancialmente provee al menos una actividad biológica GLP-1, puede unir el ligando GLP-1 y con lo cual provee al menos una actividad que es de otra manera mediada a través de la

unión de GLP-1 a por menos un ligando, tal como un receptor GLP-1, o a través de otros mecanismos mediados o dependientes de proteína. Como se usa aquí, el término "actividad de mimeticuerpo de GLP-1" se refiere a un mimeticuerpo de GLP-1 que puede modular o causar al menos una actividad dependiente de GLP-1 por aproximadamente 20-10,000%, preferiblemente por al menos aproximadamente 60, 70, 80, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 700, 800, 900, 1000, 2000, 3000, 4000, 5000, 6000, 7000, 8000, 9000 % o más, dependiendo del ensayo.

La capacidad de un mimeticuerpo GPL-1 o porción especificada o variante para proveer al menos una actividad dependiente de proteína es preferiblemente valorada por al menos un ensayo biológico de proteína adecuado, como se describe aquí y/o como se conoce en la técnica. Un mimeticuerpo de GLP-1 humano o porción especificada o variante de la invención puede ser similar a cualquier clase (IgG, IgA, IgM, etc.) o isotipo y puede comprender al menos una porción de una cadena ligera kappa o lambda. En una modalidad, el mimeticuerpo de GLP-1 humano o porción especificada o variante comprende fragmentos variables de cadena pesada IgG, región bisagra, CH2 y CH3 de, al menos uno de los isotipos, por ejemplo IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4.

Al menos un mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o variante de la invención une al menos un ligando, subunidad, fragmento, porción o cualquier combinación de los mismos. El al menos un péptido GLP-

1, variante o derivado de al menos un mimeticuerpo de GLP-1, porción especificada o variante de la presente invención puede opcionalmente unir al menos un epitope especificado del ligando. El epitope de unión puede comprender cualquier combinación de al menos una secuencia de aminoácido de al menos 1-3 aminoácidos para la porción especificada entera de aminoácidos contiguos de las secuencias de un ligando de proteína, tal como un receptor GLP-1 o su porción.

Dichos mimeticuerpos se pueden preparar mediante la unión juntas de las varias porciones de fórmula (I) de mimeticuerpo de GLP-1 usando técnicas conocidas, mediante la preparación y expresión de al menos una de las moléculas del ácido nucleico que codifica el mimeticuerpo de GLP-1, usando técnicas conocidas de tecnología de ADN recombinante o al usar cualquier otro método adecuado, tal como síntesis química.

Mimeticuerpos que unen a ligandos GLP-1 humanos, tal como receptores, y que comprenden una región variable de cadena pesada o ligera definida o porción de la misma, se pueden preparar usando métodos adecuados, tal como despliegue de fago (Katsube, Y., et al., Int J Mol. Med, 1(5): 863-868 (1998)) o métodos que emplean animales transgénicos, como se conoce en la técnica. El mimeticuerpo de GLP-1, porción especificada o variante se pueden expresar usando la codificación del ácido nucleico o porción del mismo en una célula huésped adecuada.

La invención también se refiere a mimeticuerpos, fragmentos de unión de ligando y cadenas de inmunoglobulina que comprenden aminoácidos

en una secuencia que es sustancialmente la misma como la secuencia aminoácido descrita aquí. Preferiblemente, dichos mimeticuerpos o fragmentos de unión de ligando de los mismos pueden unir ligandos GLP-1 humanos, tal como receptores, con alta afinidad (por ejemplo, K_D menor o igual a aproximadamente 10^{-7}M). Secuencias de aminoácidos que son sustancialmente las mismas que las secuencias descritas aquí incluyen secuencias que comprenden sustituciones de aminoácidos conservativas, así como supresiones y/o inserciones de aminoácidos. Una sustitución de aminoácido conservativa se refiere al reemplazo de un primer aminoácido por un segundo aminoácido que tiene propiedades químicas y/o físicas (por ejemplo, carga, estructura, polaridad, hidrofobicidad/hidrofilicidad) que son similares a aquellas del primer aminoácido. Sustituciones conservativas incluyen el reemplazo de un aminoácido por otro dentro del los siguientes grupos: lisina (K), arginina (R), e histidina (H); aspartato (D) y glutamato (E); asparagina (N), glutamina (Q), serina (S), treonina (T), tirosina (Y), K, R, H, D y E; alanina (A), valina (V), leucina (L), isoleucina (I), prolina (P), fenilalanina (F), triptofan (W), metionina (M), cisteina (C) y glicina (G); F, W e Y; C, S y T.

Códigos de aminoácido

Los aminoácidos que preparan mimeticuerpos o porciones especificadas o variantes de la presente invención son frecuentemente abreviados. Las designaciones del aminoácido pueden ser indicadas mediante la designación del aminoácido por su código de letras sencillas, su código de

tres letras, nombre, o tres codones de nucleótido como en bien entendido en la técnica (Véase Alberts, B. et al., Molecular Biology of The Cell, Third Ed., Garland Publishing, Inc. New York, 1994).

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

Un mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o variante de la presente invención puede incluir una o más sustituciones, supresiones o adiciones de aminoácido, ya sea de mutaciones naturales o manipulación humana, como se especifica aquí. Tales u otras secuencias que pueden ser usadas en la presente invención, incluyen, pero no se limitan a las siguientes secuencias presentadas en el cuadro 1, como se muestran correspondientes

a porciones específicas de SEQ ID NOS: 47-64, donde la región variable parcial de la secuencia de anticuerpo puede ser, pero sin limitarse a, por lo menos una porción de al menos una de SEQ IN NOS: 47-55, o su fragmento como se describe en el cuadro 1, además comprende opcionalmente al menos una sustitución, inserción o supresión como se describe adicionalmente en las figuras 1-9 de la publicación de PCT WO 05/05604 (PCT US04/19898) registrada el 24 de junio de 2004 y publicada el 20 de enero de 2005, con SEQ ID NOS: 1-9 correspondientes. El CH2, CH3 y región de bisagra pueden ser, pero no limitarse a, por lo menos una porción de al menos una de SEQ ID NOS: 56-64, o su fragmento como se describe en el cuadro 1, además opcionalmente comprendiendo al menos una sustitución, inserción o supresión como se describe adicionalmente en las figuras 32-40 de publicación de PCT WO 05/05604 (PCT US04/19898) registrada el 24 de junio de 2004 y publicada el 20 de enero de 2005, con SEQ ID NOS: 32-40 correspondientes. Por supuesto, un experto en la técnica puede hacer un número de sustituciones de aminoácidos dependiendo de muchos factores, incluyendo aquellos descritos anteriormente. Generalmente hablando, el número de sustituciones, inserciones o supresiones de aminoácidos por al menos uno de un mimeticuerpo de GLP-1 no será más de 40, 30, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1 aminoácidos, tal como 1-30 o cualquier intervalo o valor en este, como se especifica aquí.

En la fórmula I de la presente invención (P(n)-L-(o)-V(p)-H(q)-CH2(r)-CH3(s)(t), las porciones V, H, CH2, CH3 de acuerdo con la fórmula I

pueden ser cualquier secuencia compatible humana o humana adecuada, por ejemplo, como se presenta en el cuadro 1, donde la región variable parcial de la secuencia de anticuerpo puede ser, pero no limitarse a, por lo menos una porción de al menos uno de SEQ ID NOS: 47-55, o su fragmento como se describe en el cuadro 1, comprendiendo opcionalmente además al menos una sustitución, inserción o supresión como se describe adicionalmente en las figuras 1-9 de la publicación de PCT WO 05/05604 (PCT US04/19898) registrada el 24 de junio de 2004 y publicada el 20 de enero de 2005, con SEQ ID NOS: 1-9 correspondientes, y donde el CH2, CH3 y la región de bisagra pueden ser, pero no limitarse a, por lo menos una porción de al menos uno de SEQ ID NOS: 56-64, o su fragmento como se describe en el cuadro 1, comprendiendo opcionalmente además al menos una sustitución, inserción o supresión como se describe adicionalmente en las figuras 32-40 de la publicación de PCT WO 05/05604 (PCT US04/19898) registrada el 24 de junio de 2004 y publicada el 20 de enero de 2005, con SEQ ID NOS: 32-40 correspondientes, o como se conoce en la técnica, o cualquier combinación o su secuencia consenso, o cualquier proteína de fusión del mismo, preferiblemente de origen humano o diseñado para minimizar la inmunogenecidad cuando se administra a humanos.

La porción P puede comprender al menos un péptido terapéutico GLP-1 conocido en la técnica o descrito aquí, tal como, pero no limitándose a aquellos presentados en SEQ ID NO:1, o cualquier combinación o secuencia consenso del mismo, o cualquier proteína de fusión del mismo. En una

modalidad preferida, la porción P puede comprender al menos un péptido GLP-1 que tiene la secuencia de al menos uno de SEQ ID NO: 6, o cualquier combinación o secuencia consenso del mismo, o cualquier proteína de fusión del mismo.

La secuencia enlazadora opcional puede ser cualquier enlazador de péptido adecuado como es conocido en la técnica. Secuencias preferidas incluyen cualquier combinación de G y S, por ejemplo, X1- X2-X3-X4-..... Xn, donde X puede ser G o S, y n puede ser 5-30. Ejemplos no limitantes incluyen GS, GGS, GGGS (SEQ ID NO: 16), GSGGGS (SEQ ID NO: 17), GGSGGGS (SEQ ID NO: 18), GGSGGGSGG (SEQ ID NO: 19) y GGGSGGGSGG (SEQ ID NO: 20) y lo similar.

Los aminoácidos en un mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o variante de la presente invención que son esenciales para la función se puede identificar por métodos conocidos en la técnica, tal como mutagenesis dirigida de sitio o mutagenesis de clasificación de alanina (por ejemplo, Ausubel, supra, capítulos 8, 15; Cunningham y Wells, Science 244: 1081-1085 (1998)). El último procedimiento introduce mutaciones de alanina sencillas en cada residuo en la molécula. Las moléculas mutantes resultantes después son analizadas para actividad biológica, tal como, pero sin limitarse a, por lo menos una actividad relacionada con proteína, como se especifica aquí o como se conoce en la técnica. Los sitios que son críticos para el mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o variante de unión también se puede identificar mediante análisis estructural tal como cristalización,

resonancia magnética nuclear o etiquetado de fotoafinidad (Smith, et al., J. Mol. Biol. 224:899-904 (1992) y de Vos, et al., Science 255:306-312 (1992)).

Mimeticuerpos o porción especificadas o variantes de la presente invención pueden comprender como la porción P de fórmula (I), por ejemplo pero sin limitarse a, por lo menos una porción de al menos uno de SEQ ID NOS: 1 y 6. Un mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o variante puede comprender opcionalmente además al menos una porción funcional de al menos un polipéptido como porción P de fórmula (I), al menos 90-100% de al menos uno de SEQ ID NOS 1 y 6. Variantes no limitantes que pueden aumentar o mantener al menos una de las actividades enlistadas anteriormente incluyen, pero no se limitan a, cualquiera de los polipéptidos anteriores, comprenden además al menos una mutación correspondiente a por lo menos una sustitución, inserción o supresión que no afecta significantemente las actividades biológicas adecuadas o funciones de dicho mimeticuerpo de GLP-1.

En una modalidad, la secuencia de aminoácido P, o su porción, tiene aproximadamente 90-100% de identidad (es decir, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100 o cualquier intervalo o valor en este) para la secuencia de aminoácido correspondiente de la porción correspondiente de al menos uno de SEQ ID NOS: 1 y 6. Preferiblemente, la identidad de aminoácido de 90-100% (es decir, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100 o cualquier intervalo o valor en este) se determina usando un algoritmo de computadora adecuado, como es conocido en la técnica.

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

Como aquellos de experiencia apreciarán, la presente invención incluye al menos un mimeticuerpo de GLP-1 activo biológicamente o porción especificada o variante de la presente invención. Mimeticuerpos activos biológicamente o porciones especificadas o variantes tienen una actividad específica de al menos 20%, 30% o 40%, y preferiblemente al menos 50%, 60% o 70%, y más preferiblemente al menos 80%, 90% o 95%-1000% de aquella de endógena nativa (no sintética) o relacionada y proteína insertada o fusionada conocida o porción especificada o variante. Métodos de medidas de ensayo y cuantificación de actividad enzimática y especificidad de sustrato son bien conocidos por aquellos de experiencia en la técnica.

En otro aspecto, la invención se refiere a mimeticuerpos humanos y fragmentos de unión de ligando, como se describe aquí, los cuales se modifican por la unión covalente de un radical orgánico. Dicha modificación puede producir un mimeticuerpo de GLP-1 o fragmento de unión de ligando con propiedades farmacocinéticas mejoradas (por ejemplo, vida media de suero *in vivo* incrementada). El radical orgánico puede ser un grupo polimérico hidrófilo lineal o ramificado, grupo ácido graso, o grupo éster del ácido graso. En modalidades particulares, el grupo polimérico hidrófilo puede tener un peso molecular de aproximadamente 800 a aproximadamente 120,000 Daltons y puede ser polialcano glicol (por ejemplo, polietilenglicol (PEG), polipropilenglicol (PPG)), polímero de carbohidrato, polímero de aminoácido o polivinilpirrolidona, y el ácido graso o grupos éster del ácido graso pueden comprender de aproximadamente ocho a aproximadamente cuarenta átomos de carbono.

Los mimeticuerpos modificados y fragmentos de unión de ligando de la presente invención pueden comprender uno o más radicales orgánicos que son de manera covalente unidos, directamente o indirectamente, al mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o variante. Cada radical orgánico que se une a un mimeticuerpo de GLP-1 o fragmento de unión de ligando de la invención puede independiente ser un grupo polimérico hidrófilo, un grupo de ácido graso o un grupo éster del ácido graso. Como se usa aquí, el término "ácido graso" incluye ácidos mono-carboxílicos y ácidos di-carboxílicos. Un "grupo polimérico hidrófilo", como el término se usa

aquí, se refiere a un polímero orgánico que es más soluble en agua que el octano. Por ejemplo, la polilisina es más soluble en agua que en octano. De esta manera, un mimeticuerpo de GLP-1 modificado por unión covalente de polilisina se incluye por la invención. Polímeros hidrófilos adecuados para modificar mimeticuerpos de la invención pueden ser lineales o ramificados e incluyen, por ejemplo, polialcanoglicoles (por ejemplo, PEG, monometoxi-polietilenglicol (mPEG), PPG y lo similar), carbohidratos (por ejemplo, dextrano, celulosa, oligosacáridos, polisacáridos y lo similar), polímeros de aminoácidos hidrófilos (por ejemplo, polilisina, poliarginina, poliaspartato y lo similar), óxidos de polialcano (por ejemplo, óxido de polietileno, óxido de polipropileno y lo similar) y polivinilpirrolidona. Preferiblemente, el polímero hidrófilo que modifica el mimeticuerpo de GLP-1 de la invención tiene un peso molecular de aproximadamente 800 a aproximadamente 150,000 Daltons como un entidad molecular separada. Por ejemplo, PEG_{2500}, PEG_{5000}, PEG_{7500}, PEG_{9000}, PEG_{10000}, PEG_{12500}, PEG_{15000}, y $PEG_{20,000}$, en donde el subíndice es el peso molecular promedio del polímero en Daltons, se pueden usar.

El grupo polimérico hidrófilo se puede sustituir con uno a aproximadamente seis grupos alquilo, ácido graso o éster del ácido graso. Polímeros hidrófilos que son sustituidos con un ácido graso o grupo éster del ácido graso se pueden preparar al emplear métodos adecuados. Por ejemplo, un polímero que comprende un grupo amina se puede acoplar a un carboxilato del ácido graso o éster del ácido graso, y un carboxilato activado

(por ejemplo activado con diimidazol de N,N-carbonilo) en un ácido graso o éster del ácido graso se puede acoplar a un grupo hidroxilo en un polímero.

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

Los mimeticuerpos humanos modificados y fragmentos de unión de ligando se pueden preparar usando métodos adecuados, tal como mediante la reacción con uno o más agentes de modificación. Un "agente de modificación" conforme el término se usa aquí, se refiere a un grupo orgánico adecuado (por ejemplo, polímero hidrófilo, un ácido graso, un éster del ácido graso) que comprende un grupo de activación. Un "grupo de activación" es un radical químico o grupo funcional que puede, bajo condiciones apropiadas,

reaccionar con un segundo grupo químico con el cual forma un enlace covalente entre el agente de modificación y el segundo grupo químico. Por ejemplo, grupos de activación reactivos con amina incluyen grupos electrofílicos tales como tosilato, mesilato, halo (cloro, bromo, fluoro, yodo), ésteres N-hidroxisuccinimidilo (NHS), y lo similar. Grupos de activación que pueden reaccionar con tioles incluyen, por ejemplo, maleimida, yodoacetilo, acriloilo, disulfuros de piridilo, tiol del ácido 5-tiol-2-nitrobenzóico (TNB-tiol), y lo similar. Un grupo funcional aldehído se puede acoplar a moléculas que contienen amina- o hidracida, y un grupo azida puede reaccionar con un grupo fosforoso trivalente para formar enlaces fosforamidato o fosforimida. Métodos adecuados para introducir grupos de activación en moléculas son conocidos en la técnica (véase por ejemplo, Hermanson, G. T. Bioconjugate Techniques, Academic Press: San Diego, CA (1996)). Un grupo de activación puede ser unido directamente al grupo orgánico (por ejemplo, polímero hidrófilo, ácido graso, éster del ácido graso) o a través de un radical enlazador, por ejemplo un grupo de C_1-C_{12} divalente en donde uno o más átomos de carbono se pueden reemplazar por un heteroátomo tal como oxígeno, nitrógeno o azufre. Radicales enlazadores adecuados, por ejemplo, tetraetilenglicol $-(CH_2)_3-$, $-NH-(CH_2)_6-NH-$, $-(CH_2)_2-NH$ y $-CH_2-O-CH_2-CH_2-O-CH_2-CH_2-O-CH-NH-$. Agentes de modificación que comprenden un radical enlazador se pueden producir, por ejemplo, al hacer reaccionar una mono-Boc-alquildiamina (por ejemplo, mono-Boc-etilendiamina, mono-Boc-diaminohexano) con un ácido graso en la presencia de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDC) para formar un

enlace amida entre la amina libre y el carboxilato del ácido graso. El grupo de protección Boc se puede remover del producto mediante el tratamiento con ácido trifluoroacético (TFA) para exponer una amina primaria que se puede acoplar a otro carboxilato como se describe, o se puede hacer reaccionar con anhídrido maléico y el producto resultante ciclizado para producir un derivado de maleimido activado del ácido graso. (Véase, por ejemplo, Thompson, et al., WO 92/16221 las enseñanzas completas de las cuales se incorporan aquí para referencia).

Los mimeticuerpos modificados de la invención se pueden producir al hacer reaccionar un mimeticuerpo de GLP-1 humano o fragmento de unión de ligando con un agente de modificación. Por ejemplo, los radicales orgánicos se pueden unir al mimeticuerpo de GLP-1 de una manera específica de no sitio al emplear un agente de modificación reactivo con amina, por ejemplo, un éster NHS de PEG. Mimeticuerpos humanos modificados o fragmentos de unión de ligando también se pueden preparar al reducir enlaces de disulfuro (por ejemplo, enlaces de disulfuro de cadena intra) de un mimeticuerpo de GLP-1 o fragmento de unión de ligando. El mimeticuerpo de GLP-1 reducido o fragmento de unión de ligando entonces se puede hacer reaccionar con un agente de modificación reactivo con tiol para producir el mimeticuerpo de GLP-1 modificado de la invención. Mimeticuerpos humanos modificados y fragmentos de unión de ligando comprenden un radical orgánico que se une a sitios específicos de un mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o variante de la presente invención se pueden preparar

usando métodos adecuados, tal como proteólisis inversa (Fisch et al., Bioconjugate. Chem., 3:147-153 (1992); Werlen et al., Bioconjugate Chem., 5:411-417 (1994); Kumaran et al., Protein Sci 6(10): 2233-2241 (1997); Itoh et al., Bioorg. Chem., 24(1): 59-68 (1996); Capellas et al., Biotechnol. Bioeng., 56(4): 456-463 (1997)), y los métodos descritos en Hermanson, G.T. Bioconjugate Techniques, Academic Press: San Diego, CA (1996).

Composiciones de mimeticuerpo de GLP-1

La presente invención también provee al menos un mimeticuerpo de GLP-1 en porción especificada o composición variante que comprende al menos uno, al menos dos, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis o más mimeticuerpos o porciones especificadas o variantes del mismo, como se describe aquí y/o como se conoce en la técnica que son proporcionados en una composición de origen no natural, mezcla o forma. Dichos porcentajes de composición son en peso, volumen, concentración, molaridad, o molalidad como líquido o soluciones secas, mezclas, suspensión, emulsiones o coloides, como se conoce en la técnica o como se describe aquí.

Dichas composiciones pueden comprender 0.00001-99.9999 por ciento en peso, volumen, concentración, molaridad, o molalidad como líquido, gas, o soluciones secas, mezclas, suspensión, emulsiones o coloides, como se conoce en la técnica o como se describe aquí, o cualquier intervalo o valor en esta, tal como pero sin limitarse a 0.00001, 0.00003, 0.00005, 0.00009,

0.0001, 0.0003, 0.0005, 0.0009, 0.001, 0.003, 0.005, 0.009, 0.01, 0.02, 0.03, 0.05, 0.09, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1.0, 1.1, 1.2, 1.3, 1.4, 1.5, 1.6, 1.7, 1.8, 1.9, 2.0, 2.1, 2.2, 2.3, 2.4, 2.5, 2.6, 2.7, 2.8, 2.9, 3.0, 3.1, 3.2, 3.3, 3.4, 3.5, 3.6, 3.7, 3.8, 3.9, 4.0, 4.3, 4.5, 4.6, 4.7, 4.8, 4.9, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 99.1, 99.2, 99.3, 99.4, 99.5, 99.6, 99.7, 99.8, 99.9%. Dichas composiciones de la presente invención de esta manera incluyen pero no se limitan a 0.00001-100 mg/ml y/o 0.00001-100 mg/g.

La composición puede opcionalmente comprender además una cantidad efectiva de al menos un compuesto o proteína seleccionada de al menos un fármaco relacionado con el metabolismo de insulinación o diabetes, un fármaco anti-infectivo, un fármaco para el sistema cardiovascular (CV), un fármaco para el sistema nervioso central (CNS), un fármaco del sistema nervioso autonómico (ASN), un fármaco del tracto respiratorio, un fármaco del tracto gastrointestinal (GI), un fármaco hormonal, un fármaco para fluido o balance de electrolito, un fármaco hematológico, un antineoplásico, un fármaco de inmunomodulación, un fármaco oftálmico, ótico o nasal, un fármaco tópico, un fármaco nutricional o lo similar. Dichos fármacos son bien conocidos en la técnica, incluyendo formulaciones, indicaciones, dosificaciones y administración para cada uno presentado aquí (véase, por ejemplo, Nursing 2001 Handbook of Drugs, 21a edición, Springhouse Corp. Springhouse, PA, 2001; Health Professional's Drug Guide 2001, ed., Shannon,

Wilson, Stang, Prentice-Hall, Inc., Upper Saddle River, NJ; Pharmacotherapy Handbook, Wells et al., ed., Appleton & Lange, Stamford, CT, cada uno totalmente incorporado aquí para referencia.

El fármaco relacionado con diabetes puede ser al menos uno de glitazonas, insulina y derivados, sulfonilureas, meglitinidas, biguanidas, inhibidores de alfa-glucosidasa, proteína tirosina fosfatasa-1B, glicogen sintasa cinasa 3, inhibidores de gluconeogenesis, inhibidores de piruvato deshidrogenasa cinasa (PDH), inhibidores de lipólisis, inhibidores de oxidación de grasa, inhibidores de carnitina palmitoiltransferasa I y/o II, agonistas del adrenoreceptor beta-3, inhibidores del co-transportador de sodio y glucosa (SGLT), o compuestos que actúan en uno o más de al menos uno de: supresión auto-inmune, regulación inmune, activación, proliferación, migración y/o supresor de la función celular de células T, inhibición de interacción del receptor/péptido/MHC-II de célula T. Inducción de anergia de célula T, supresión de células T auto-reactivas, reducción de la circulación a través de la barrera de sangre cerebro, alteración del balance de citocinas pro-inflamatorias (Th1) e inmunomoduladoras (Th2), inhibición de inhibidores de metaloproteinasa de matriz, neuroprotección, reducción de gliosis, promoción de re-mielinación.

El fármaco anti-infectivo puede ser al menos uno seleccionado de amebicidas o antiprotozoarios, antelminticos, antifúngicos, antimalariales, antituberculóticos o antileproticos, aminoglicosidas, penicilinas, cefalosporinas, tetraciclinas, sulfonamidas, fluoroquinolonas, antivirales, anti-

infectivos de macrólido y anti-infectivos de misceláneos. El fármaco CV puede ser al menos uno seleccionado de fármacos inotrópicos, antiarrítmicos, antianginales, antihipertensivos, antilipemicos y cardiovasculares misceláneos. El fármaco CNS puede ser al menos uno seleccionado de analgésicos no narcóticos o al menos uno seleccionado de fármacos antipiréticos, anti-inflamatorios no esteroidales, analgésicos nacóticos u opioides, hipnóticos sedativos, anti-convulsionantes, antidepresivos, fármacos anti-ansiedad, anti-sicóticos, estimulantes del sistema nervioso central, fármacos antiparkinsonianos y del sistema nervioso central misceláneos. El fármaco ANS puede ser al menos uno seleccionado de colinérgicos (parasimpatomiméticos), anticolinérgicos, adrenérgicos (simpatomiméticos), bloqueadores adrenérgicos (simpatolíticos), relajantes del músculo esqueletal, y bloqueadores neuromusculares. El fármaco del tracto respiratorio puede ser al menos uno seleccionado de anti-histaminas, broncodilatores, expectorantes o antitusivos y fármacos respiratorios misceláneos. El fármaco del tracto GI puede ser al menos uno seleccionado de fármacos antiácidos, adsorbentes, anti-flatulentos, enzimas digestivas, solubilizantes de cálculos biliares, antidiarreicos, laxantes, antieméticos y anti-úlcera. El fármaco hormonal puede ser al menos uno seleccionado de corticosteroides, andrógenos, esteroides anabólicos, estrógenos, progestinas, gonadotropinas, fármacos antidiabéticos, al menos un glucagon, hormonas de tiroides, antagonistas de la hormona de tiroides, hormonas pituitarias y fármacos tipo paratiroides. El fármaco para fluido y balance de electrolito puede ser al menos uno

seleccionado de diuréticos, electrolitos, soluciones de reemplazo, acidificadores, alcalinizadotes. El fármaco hematológico puede ser al menos uno seleccionado de hematínicos, anticoagulantes, derivados de sangre y enzimas trombolíticas. Los antineoplásicos pueden ser al menos uno seleccionado de fármacos de alquilación, antimetabolitos, antineoplásicos antibióticos, antineoplásicos que alteran el balance de la hormona y antineoplásicos misceláneos. El fármaco de inmunomodulación puede ser al menos uno seleccionado de inmunosupresores, vacunas, toxoides, antitoxinas, antivenenos, sueros inmunes y modificadores de la respuesta biológica. Los fármacos oftálmico, ótico y nasal pueden ser al menos uno seleccionado de anti-infectivos oftálmicos, anti-inflamatorios oftálmicos, mióticos, midriáticos, vasoconstrictores oftálmicos y oftálmicos misceláneos, óticos, fármacos nasales. El fármaco tópico puede ser al menos uno seleccionado de anti-infectivos locales, escabicidas, pediculicidas y corticosteroides tópicos. El fármaco nutricional puede ser al menos uno seleccionado de vitaminas, minerales y calóricos. Véase, por ejemplo, contenidos de Nursing 2001 Drug Handbook, supra.

El al menos un amebicida o antiprotozoario puede ser al menos uno seleccionado de atovaquona, clorhidrato de cloroquina, fosfato de cloroquina, metronidazol, clorhidrato de metronidazol e isetionato de pentamidina. El al menos un antihelmíntico puede ser al menos uno seleccionado de mebendazol, pamoato de pirantel y tiabendazol. El al menos un antifúngico puede ser al menos uno seleccionado de anfotericina B,

complejo sulfato colesteril de anfotericina B, complejo lípido de anfotericina B, anfotericina B liposomal, fluconazol, flucitosina, griseofulvin microsiza, griseofulvin ultramicrosiza, itraconazol, cetoconazol, nistatina y clorhidrato de terbinafina. El al menos un antimalárico puede ser al menos uno seleccionado de clorhidrato de cloroquina, fosfato de cloroquina, doxiciclina, sulfato de hidroxicloroquina, clorhidrato de mefloquina, fosfato de primaquina, pirimetamina y pirimetamina con sulfadoxina. El al menos un antituberculótico o antileprótico puede ser al menos uno seleccionado de clofazimina, cicloserina, dapsona, clorhidrato de etambutol, isoniazid, pirazinamida, rifabutina, rifampina, rifapentina y sulfato de estreptomicina. El al menos un aminoglicósido puede ser al menos uno seleccionado de sulfato de amicacina, sulfato de gentamicina, sulfato de neomicina, sulfato de estreptomicina y sulfato de tobramicina. La al menos una penicilina puede ser al menos una seleccionada de amoxilina/clavulanato de potasio, trihidrato de amoxilina, ampicilina, ampicilina de sodio, trihidrato de ampicilina, ampicilina de sodio/sulbactam de sodio, cloxacilina de sodio, dicloxacilina de sodio, mezclocilina de sodio, nafcilina de sodio, oxacilina de sodio, penicilina G de benzatina, penicilina G de potasio, penicilina G de procaína, penicilina G de sodio, penicilina G de potasio, piperacilina de sodio, piperacilina de sodio/tazobactam de sodio, ticarcilina de disodio y ticarcilina de disodio/clavulanato de potasio. La al menos una cefalosporina puede ser al menos una seleccionada de al menos una de cefaclor, cefadroxil, cefozolina de sodio cefdinir, clorhidrato de cefepima, cefixima, cefmetazol de sodio,

cefonicida de sodio, cefoperazona de sodio, cefotaxima de sodio, cefotetano de disodio, cefoxitina de sodio, cefpodoxima de proxetilo, cefprozil, ceftazidima, ceftibuteno, ceftizoxima de sodio, ceftriaxona de sodio, cefuroxima de axetilo, cefuroxima de sodio, clorhidrato de cefalexina, monohidrato de cefalexina, cefradina, lorocarbef. La al menos una tetraciclina puede ser al menos una seleccionada de clorhidrato de demeclociclina, doxiciclina de calcio, hiclato de doxiciclina, clorhidrato de doxiciclina, monohidrato de doxiciclina, clorhidrato de minociclina, clorhidrato de tetraciclina. La al menos una sulfonamida puede ser al menos una seleccionada de co-trimoxazol, sulfadiazina, sulfametoxazol, sulfisoxazol, sulfisoxazol acetilo. La al menos una fluoroquinolona puede ser al menos una seleccionada de mesilato de alatrofloxacina, ciprofloxacina, enoxacina, levofloxacina, clorhidrato de lomefloxacina, ácido nalidixico, norfloxacina, ofloxacina, esparfloxacina, mesilato de trovafloxacina. La al menos una fluoroquinolona puede ser al menos una seleccionada de mesilato de alatrofloxacina, ciprofloxacina, enoxacina, levofloxacina, clorhidrato de lomefloxacina, ácido nalidixico, norfloxacina, ofloxacina, esparfloxacina, mesilato de trovafloxacina. El al menos un antiviral puede ser al menos uno seleccionado de sulfato de abacavir, aciclovir de sodio, clorhidrato de amantadina, amprenavir, cidofovir, mesilato de delavirdina, didanosina, efavirens, famciclovir, fomivirsen de sodio, foscarnet de sodio, ganciclovir, sulfato de indinavir, lamivudina, lamivudina/zidovudina, mesilato de nelfinavir, nevirapina, fosfato de oseltamivir, ribavirin, clorhidrato de rimantadina,

ritonavir, saquinavir, mesilato de saquinavir, estavudina, clorhidrato de valaciclovir, zalcitabina, zanamivir, zidovudina. El al menos un anti-infectivo de macrolina puede ser al menos uno seleccionado de azitromicina, claritromicina, diritromicina, base de eritromicina, estolato de eritromicina, etilsuccinato de eritromicina, lactobionato de eritromicina, estearato de eritromicina. El al menos un anti-infectivo misceláneo puede ser al menos uno seleccionado de aztreonam, bacitracina, succinato de cloranfenicol sódico, clorhidrato de clindamicina, clorhidrato de clindamicina palmitato, fosfato de clindamicina, imipenem y cilastatina de sodio, meropenem, macrocristales de nitrofurantoina, microcristales de nitrofurantoina, quinupristina/dalfopristina, clorhidrato de espectinomicina, trimetoprim, clorhidrato de vancomicina (Véase, por ejemplo, pp. 24-214 de Nursing 2001 Drug Handbook).

El al menos un inotrópico puede ser al menos uno seleccionado de lactato de amrinona, digoxin, lactato de milrinona. El al menos un antiarrítmico puede ser al menos uno seleccionado de adenosina, clorhidrato de amiodarona, sulfato de atropina, tosilato de bretilio, clorhidrato de diltiazem, disopiramida, fosfato de disopiramida, clorhidrato de esmolol, acetato de flecainida, fumarato de ibutilida, clorhidrato de lidocaina, clorhidrato de mexiletina, clorhidrato de moricizina, fenitoina, fenitoina de sodio, clorhidrato de procainamida, clorhidrato de propafenona, clorhidrato de propanolol, bisulfato de quinidina, gluconato de quinidina, poligalacturonato de quinidina, sulfato de quinidina, sotalol, clorhidrato de tocainida, clorhidrato de verapamilo. El al menos un antianginoso puede ser al menos uno

seleccionado de besilato de amlodipidina, nitrato de amilo, clorhidrato de bepridilo, clorhidrato de diltiazem, dinitrato de isosorbida, mononitrato de isosorbida, nadolol, clorhidrato de nicardipina, nifedipina, nitroglicerina, clorhidrato de propanolol, verapamil, clorhidrato de verapamil. El al menos un antihipertensivo puede ser al menos uno seleccionado de clorhidrato de acebutolol, besilato de amlodipina, atenolol, clorhidrato de benazeprilo, clorhidrato de betaxolol, fumarato de bisoprolol, cilexetilo de cardesartan, captopril, clorhidrato de carteolol, carvedilol, clonidina, clorhidrato de clonidina, diazoxida, clorhidrato de diltiazem, mesilato de doxazosina, enalaprilat, maleato de enalapril, mesilato de eprosartan, felodipina, mesilato de fenoldopam, fosinopril de sodio, acetato de guanabenz, sulfato de guanadrel, clorhidrato de guanfacina, clorhidrato de hidralazina, irbesartan, isradipina, clorhidrato de labetalol, lisinopril, losartan de potasio, metildopa, clorhidrato de metildopato, succinato de metoprolol, tartrato de metoprolol, minoxidilo, clorhidrato de moexipril, nadolol, clorhidrato de nicardipina, nifedipina, nisoldipina, nitroprusida de sodio, sulfato de penbutolol, erbumina de perindopril, mesilato de fentolamina, pindolol, clorhidrato de prazosin, clorhidrato de propanolol, clorhidrato de quinapril, rampril, telmisartan, clorhidrato de terazosin, maleato de timolol, trandolapril, valsartan, clorhidrato de verapamil. El al menos un antilipémico puede ser al menos uno seleccionado de atorvastatina de calcio, cerivastatina de sodio, clorestiramina, clorhidrato de colestipol, fenofibrato (micronizado), fluvastatina de sodio, gemfibrozil, lovastatina, niacina, pravastatina de sodio, simvastatina. El al

menos un fármaco CV misceláneo puede ser al menos uno seleccionado de abciximab, alprostadilo, clorhidrato de arbutamina, cilostazol, bisulfato de clopidogrel, dipiridamol, eptifibatida, clorhidrato de midodrina, pentoxifilina, clorhidrato de ticlopidina, clorhidrato de tirofiban (Véase, por ejemplo, pp. 215-336 de Nursing 2001 Drug Handbook).

El al menos un analgésico no narcótico o antipirético puede ser al menos uno seleccionado de acetaminofen, aspirina, trisalicilato de colina magnesio, diflunisal, salicilato de magnesio. El menos un fármaco anti-inflamatorio no esteroidal puede ser al menos uno seleccionado de celecoxib, diclofenac de potasio, diclofenac de sodio, etodolac, fenoprofen de calcio, flurbiprofen, ibuprofen, indometacina, trihidrato de indometacina sódico, cetoprofen, cetorolac, trometamina, nabumetona, naproxeno, naproxeno sódico, oxaprozin, piroxicam, rofecoxib, sulindac. El al menos un analgésico narcótico u opioide puede ser al menos uno seleccionado de clorhidrato de alfentanil, clorhidrato de buprenorfina, tartrato de butorfanol, fosfato de codeína, sulfato de codeína, citrato de fentanilo, sistema transdérmico fentanilo, transmucosal de fentanilo, clorhidrato de hidromorfona, clorhidrato de meperidina, clorhidrato de metadona, clorhidrato de morfina, sulfato de morfina, tartrato de morfina, clorhidrato de nalbufina, clorhidrato de oxicodona, pectinato de oxicodona, clorhidrato de oximorfona, clorhidrato de pentazocina, clorhidrato de pentazocina y clorhidrato de naloxona, lactato de pentazocina, clorhidrato de propoxifeno, napsilato de propoxifeno, clorhidrato de remifentanilo, citrato de sufentanilo, clorhidrato de tramadol. El al menos un

sedante-hipnótico puede ser al menos uno seleccionado de hidrato de cloral, estazolam, clorhidrato de flurazepam, pentobarbital, pentobarbital de sodio, fenobarbital de sodio, secobarbital de sodio, temazepam, triazolam, zaleplon, tartrato de zolpidem. El al menos un anti-convulsionante puede ser al menos uno seleccionado de acetazolamida de sodio, carbamazepina, clonazepam, clorazepato de dipotasio, diazepam, divalproex sódico, etosuximida, fosfenitoina de sodio, gabapentina, lamotrigina, sulfato de magnesio, fenobarbital, fenobarbital de sodio, fenitoina, fenitoina de sodio, fenitoina de sodio (extendida), pirimidona, clorhidrato de tiagabina, topiramato, valproato de sodio, ácido valpróico. El al menos un antidepresivo puede ser al menos uno seleccionado de clorhidrato de amitriptilina, pamoato de amitriptilina, amoxapina, clorhidrato de bupropiona, bromhidrato de citalopram, clorhidrato de clomipramina, clorhidrato de desipramina, clorhidrato de doxepina, clorhidrato de fluoxetina, clorhidrato de imipramina, pamoato de imipramina, mirtazapina, clorhidrato de nefazodona, clorhidrato de nortriptilina, clorhidrato de paroxetina, sulfato de fenelzina, clorhidrato de sertralina, sulfato de tranilcipromina, maleato de trimipramina, clorhidrato de venlafaxina. El al menos un fármaco anti-ansiedad puede ser al menos uno seleccionado de alprazolam, clorhidrato de buspirona, clordiazGLP-1xida, clorhidrato de clordiazGLP-1xida, clorazepato de dipotasio, diazepam, clorhidrato de doxepina, embonato de hidroxizina, clorhidrato de hidroxizina, pamoato de hidroxizina, lorazepam, mefrobamato, clorhidrato de midazolam, oxazepam. El al menos un fármaco anti-sicótico puede ser al menos uno seleccionado de

clorhidrato de clorpromazina, clozapina, decanoato de flufenazina, enantato de fluefanazina, clorhidrato de flufenazina, haloperidol, decanoato de haloperidol, lactato de haloperidol, clorhidrato de loxapina, succinato de loxapina, besilato de mesoridazina, clorhidrato de molindona, olanzapina, perfenazina, pimozida, proclorperazina, fumarato de quetiapina, risperidona, clorhidrato de toridazina, tiotixeno, clorhidrato de tiotixeno, clorhidrato de trifluoroperazina. El al menos un estimulante del sistema nervioso central puede ser al menos uno seleccionado de sulfato de anfetamina, cafeína, sulfato de dextroanfetamina, clorhidrato de doxapram, clorhidrato de metanfetamina, clorhidrato de metilfenidato, modafinilo, pemolina, clorhidrato de fentermina. El al menos un anti-parkinsoniano puede ser al menos uno seleccionado de clorhidrato de amantadina, mesilato de benztropina, clorhidrato de biperiden, lactato de biperiden, mesilato de bromocriptina, carbidopa-levodopa, entacapona, levodopa, mesilato de pergolida, diclorhidrato de pramipexol, clorhidrato de ropinirol, clorhidrato de selegilina, tolcapona, clorhidrato de trihexilfenidilo. El al menos un fármaco del sistema nervioso central misceláneo puede ser al menos uno seleccionado de clorhidrato de bupropion, clorhidrato de donepezil, droperidol, maleato de fluvoxamina, carbonato de litio, citrato de litio, clorhidrato de naratriptan polacrilex de nicotina, sistema transdérmico de nicotina, propofol, benzoato de rizatriptan, clorhidrato de sibutramina monohidratado, succinato de sumatriptan, clorhidrato de tacrina, zolmitriptan. (Véase, por ejemplo, pp. 337-530 de Nursing 2001 Drug Handbook).

El al menos un colinérgico (por ejemplo, parasimatomimético) puede ser al menos uno seleccionado de cloruro de betanecol, cloruro de edrofonio, bromuro de neostigmina, metilsulfato de neostigmina, salicilato de fisostigmina, bromuro de piridostigmina. Los al menos unos anticolinérgicos pueden ser al menos uno seleccionado de sulfato de atropina, clorhidrato de diciclomina, glicopirrolato, hiosciamina, sulfato de hiosciamina, bromuro de propantelina, escopolamina, butilbromuro de escopolamina, bromhidrato de escopolamina. Los al menos unos adrenérgicos (simpatomiméticos) pueden ser al menos uno seleccionado de clorhidrato de dobutamina, clorhidrato de dopamina, bitartrato de metaraminol, bitartrato de norepinefrina, clorhidrato de fenilefrina, clorhidrato de pseudoefedrina, sulfato de pseudoefedrina. El al menos un bloqueador adrenérgico (simpatolitico) puede ser al menos uno seleccionado de mesilato de dihidroergotamina, tartrato de ergotamina, maleato de metilsergida, clorhidrato de propanolol. El al menos un relajante muscular esqueletal puede ser al menos uno seleccionado de baclofen, carisoprodol, clorzoxazona, clorhidrato de ciclobenzaprina, dantroleno de sodio, metocarbamol, clorhidrato de tizanidina. Los al menos unos bloqueadores neuromusculares pueden ser al menos uno seleccionado de besilato de atracurio, besilato de cisatracurio, cloruro de doxacurio, cloruro de mivacurio, bromuro de pancuronio, bromuro de pipecuronio, bromuro de rapacuronio, bromuro de rocuronio, cloruro de succinilcolina, cloruro de tubocurarina, bromuro de vecuronio (Véase, por ejemplo, pp. 531-84 de Nursing 2001 Drug Handbook).

La al menos una anti-histamina puede ser al menos una seleccionada de maleato de bromfeniramina, clorhidrato de cetirizina, maleato de clorfeniramina, fumarato de clemastina, clorhidrato de ciproheptadina, clorhidrato de difenhidramina, clorhidrato de fexofenadina, loratadina, clorhidrato de prometazina, teoclato de prometazina, clorhidrato de triprolidina. Los al menos unos broncodilatadores pueden ser al menos uno seleccionado de albuterol, sulfato de albuterol, aminofilina, sulfato de atropina, sulfato de efedrina, epinefrina, bitartrato de epinefrina, clorhidrato de epinefrina, bromuro de ipratropio, isoproterenol, clorhidrato de isoproterenol, sulfato de isoproterenol, clorhidrato de levalbuterol, sulfato de metaproterenol, oxtrifilina, acetato de pirbuterol, xinafoato de salmeterol, sulfato de terbutalina, teofilina. Los al menos unos expectorantes o antitusivos pueden ser al menos uno seleccionado de benzonatato, fosfato de codeína, sulfato de codeína, bromhidrato de dextrametorfan, clorhidrato de difenilhidramina, guaifenesina, clorhidrato de hidromorfona. El al menos un fármaco respiratorio misceláneo puede ser al menos uno seleccionado de acetilcisteina, dipropionato de beclometasona, beractant, budesonida, calfactant, cromolin sódico, dornase alfa, GLP-1 prostenol de sodio, flunisolida, propionato de fluticasona, montelukast de sodio, nedocromil de sodio, palivizumab, acetonida de triamcinolona zafirlukast, zileuton (Véase, por ejemplo, pp. 585-642 de Nursing 2001 Drug Handbook).

El al menos un antiácido, adsorbentes o anti-flatulentos puede ser al menos uno seleccionado de carbonato de aluminio, hidróxido de sodio,

carbonato de calcio, magaldrato, hidróxido de magnesio, óxido de magnesio, simeticona y bicarbonato de sodio. Las al menos unas enzimas digestivas o solubilizantes de cálculos biliares pueden ser al menos uno seleccionado de pancreatina, pancrelipasa, y ursodiol. El al menos un antidiarreico puede ser al menos un seleccionado de atapulgita, subsalicilato de bismuto, policarbofilo de calcio, clorhidrato de difenoxilato o sulfato de atropina, loperamida, acetato de octreotida, colorante de opio, colorante de opio (canforado). El al menos un laxante puede ser al menos uno seleccionado de bisocodilo, policarbofilo de calcio, cáscara sagrada, extracto fluido aromático de cáscara sagrada, extracto fluido de cáscara sagrada, aceite de ricino, docusato de calcio, docusato de sodio, glicerina, lactulosa, citrato de magnesio, hidróxido de magnesio, sulfato de magnesio, metilcelulosa, aceite mineral, polietilenglicol o solución de electrolito, psilio, sena, fosfatos de sodio. El al menos un antiemético puede ser al menos uno seleccionado de clorhidrato de clorpromazina, dimenhidrinato, mesilato de dolasetron, dronabinol, clorhidrato de granisetron, clorhidrato de meclizina, clorhidrato de metoclopramida, clorhidrato de ondansetron, perfenazina, proclorperazina, edisilato de proclorperazina, maleato de proclorperazina, clorhidrato de prometazina, escopolamina, maleato de tietilperazina, clorhidrato de trimetobenzamida. El al menos un fármaco anti-úlcera puede ser al menos uno seleccionado de cimetidina, clorhidrato de cimetidina, famotidina, lansoprazol, misoprostol, nizatidina, omeprazol, rabeprozol de sodio, citrato de rantidina bismuto, clorhidrato de ranitidina, sucralfato (Véase por ejemplo, pp. 643-95 de Nursing

2001 Drug Handbook). Los al menos unos coricosteroides pueden ser al menos uno seleccionado de betametasona, acetato de betametasona o fosfato de betametasona sódico, fosfato de betametasona sódico, acetato de cortisona, dexametasona, acetato de dexametasona, fosfato de dexametasona sódico, acetato fludrocortisona, hidrocortisona, acetato de hidrocortisona, cipionato de hidrocortisona, fosfato de hidrocortisona sódico, succinato de hidrocortisona sódico, metilprednisolona, acetato de metilprednisolona, succinato de metilprednisolona sódico, prednisolona, acetato de prednisolona, fosfato de prednisolona sódico, tebutato de prednisolona, prednisona, triamcinolona, acetonida de triamcinolona, diacetato de triamcinolona. Los al menos unos esteroides andrógenos o anabólicos pueden ser al menos uno seleccionado de danazol, fluoximesterona, metiltestosterona, decanoato de nandrolona, fenpropionato de nandrolona, testosterona, cipionato de testosterona, enantato de testosterona, propionato de testosterona, sistema transdérmico de testosterona. El al menos un estrógeno o progestina puede ser al menos uno seleccionado de estrógenos esterificados, estradiol, cipionato de estradiol, sistema transdérmico de estradiol/acetato de noretindrona, valerato de estradiol, estrógenos (conjugados), estropipato, estradiol de etinilo, estradiol de etinilo y desogestrel, estradiol de etinilo y diacetato de etinodiol, estradiol de etinilo y desogestrel, estradiol de etinilo y diacetato de etinodiol, estradiol de etinilo y levonorgestrel, estradiol de etinilo y noretindrona, estradiol de etinilo y acetato de noretindrona, estradiol de etinilo y norgestimato, estradiol de etinilo y

norgestrel, estradiol de etinilo y noretindroma, y acetato y fumarato ferroso, levonorgestrel, acetato de medroxiprogesterona, mestranol y noretindron, noretindrona, acetato de noretindrona, norgestrel, progesterona. La al menos una gonadroptropina puede ser al menos una seleccionada de acetato de ganirelix, acetato de gonadorelina, acetato de histrelina, menotropinas. El al menos un antidiabético o glucaona puede ser al menos uno seleccionado de acarbosa, clorpropamida, glimepirida, glipizida, glucagon, gliburida, insulinas, clorhidrato de metformina, miglitol, clorhidrato de pioglitazona, repaglinida, maleato de rosiglitazona, troglitazona. La al menos una hormona de tiroides puede ser al menos una seleccionada de levotiroxina de sodio, liotironina de sodio, liotrix, tiroides. El al menos una antagonista de la hormona de tiroides puede ser al menos uno seleccionado de metimazol, yoduro de potasio, yoduro de potasio (solución saturada), propiltiouracilo, yodo radioactivo (yodo radioactivo ^{131}I), solución de yodo fuerte. La al menos una hormona pituitaria puede ser al menos una seleccionada de corticotropina, cosintropina, acetato de desmofresina, acetato de leuprolida, corticotropina rGLP-1sitoria, somatrem, somatropina, vasopresina. El al menos un fármaco tipo paratiroides puede ser al menos uno seleccionado de calcifediol, calcitonina (humana), calcitonina (salmon), calcitriol, dihidrotacisterol, etidronato de disodio. (Véase, por ejemplo, pp. 696-796 de Nursing 2001 drug Handbook).

El al menos un diurético puede ser al menos uno seleccionado de acetazolamida, acetazolamida de sodio, clorhidrato de amilorida, bumetanida, clortalidona, etacrinato de sodio, ácido etacrínico, furosemida,

hidroclorotiazida, indapamida, manitol, metolazona, espironolactona, torsemida, triamtereno, urea. La al menos una solución de electrolito o de reemplazo puede ser al menos una seleccionada de acetato de calcio, carbonato de calcio, cloruro de calcio, citrato de calcio, glubionato de calcio, gluceptato de calcio, gluconato de calcio, lactato de calcio, fosfato de calcio, (dibásico), fosfato de calcio (tribásico), dextrano (peso molecular alto), dextrano (peso molecular bajo), hetalmidón, cloruro de magnesio, sulfato de magnesio, acetato de potasio, bicarbonato de potasio, cloruro de potasio, gluconato de potasio, inyección de Ringer, inyección de Ringer (lactada), cloruro de sodio. El al menos un acidificador o alcalinizador puede ser al menos uno seleccionado de bicarbonato de sodio, lactato de sodio, trometamina. (Véase, por ejemplo, pp. 797-833 de Nursign 2001 Drug Handbook).

El al menos un hematínico puede ser al menos uno seleccionado de fumarato ferroso, gluconato ferroso, sulfato ferroso, sulfato ferroso (secado), dextrano de hierro, sorbitol de hierro, complejo de hierro-polisacárido, complejo de gluconato férrico de sodio. El al menos un anticoagulante puede ser al menos uno seleccionado de ardeparina de sodio, dalteparina de sodio, danaparoide de sodio, enoxaparina de sodio, heparina de calcio, heparina de sodio, warfarina de sodio. El al menos un derivado de sangre puede ser al menos uno seleccionado de albúmina al 5%, albúmina al 25%, factor anihemofílico, complejo coagulante anti-inhibidor, antitrombina III (humana), factor IX (humano), complejo de factor IX, fracciones de proteína de

plasma. La al menos una enzima trombólitica puede ser al menos una seleccionada de alteplase, anistreplase, reteplase (recombinante), estreptocinasa, urocinasa. (Véase, por ejemplo, pp. 834-66 de Nursing 2001 Drug Handbook).

El al menos un fármaco de alquilación puede ser al menos uno seleccionado de busulfan, carboplatina, carmustina, clorambucil, cisplatina, ciclofosfamida, ifosfamida, lomustina, clorhidrato de mecloretamina, melfalan, clorhidrato de melfalan estreptozocina, temozolomida, tiotepa. El al menos un antimetabolito puede ser al menos uno seleccionado de capecitabina, cladribina, citarabina, floxuridina, fosfato de fludarabina, fluorouracilo, hidroxiurea, mercaptopurina, metotrexato, metotrexato de sodio, tioguanina. El al menos un antineoplásico antibiótico puede ser al menos uno seleccionado de sulfato de bleomicina, dactinomicina, citrato de daunorubicina liposomal, clorhidrato de daunorubicina, clorhidrato de doxorubicina, clorhidrato de doxorubicina liposomal, clorhidrato de epirubicina, clorhidrato de idarubicina, mitomicina, pentostatina, plicamicina, valrubicina. Los al menos un antineoplásicos que alteran el balance hormonal pueden ser al menos uno seleccionado de anastrozol, bicalutamida, fosfato de estramustina sódico, exemestano, flutamida, acetato de goserelina, letrozol, acetato de leuprolida, acetato de megestrol, nilutamida, citrato de tamoxifeno, testolactona, citrato de toremifeno. El al menos un antineoplásico misceláneo puede ser al menos uno seleccionado de asparaginasa, bacilo Calmette-Guerin (BCG) (intravesical vivo), dacarbazina, docetaxel, etoposido, fosfato de etoposido, clorhidrato de

gemcitabina, clorhidrato de irinotecan, mitotano, clorhidrato de mitoxantrona, paclitaxel, pegaspargasa, porfimero de sodio, clorhidrato de procarbazina, rituximab, teniposida, clorhidrato de topotecan, trastuzumab, tretinoina, sulfato de vinblastina, sulfato de vincristina, tartrato de vinorelbina. (Véase, por ejemplo, pp. 867-963 de Nursing 2001 Drug Handbook).

El al menos un inmunosupresor puede ser al menos uno seleccionado de azatioprina, basiliximab, ciclosporina, daclizumab, globulina inmune a linfocito, muromonab-CD3, micofenolato de mofetil, clorhidrato de micofenolato de mofetil, sirolimus, tacrolimus. La al menos una vacuna o toxoide puede ser al menos uno seleccionado de vacuna BCG, vacuna de cólera, toxoides de difteria y tétanos (adsorbido), toxoides de difteria y tétanos y vacuna de pertusis acelular adsorbida, toxoides de difteria y tétanos y vacuna de pertusis de célula completa, vacunas de conjugado b *Haemophilius*, vacuna de hepatitis A (inactivada), vacuna de hepatitis B (recombinante) vacuna de virus de influenza 1999-2000 trivalente tipos A & B (antígeno de superficie purificada), vacuna del virus de influenza 1999-2000 trivalente tipos A & B (subvirion o subvirion purificado), vacuna de virus de influenza 1999-2000 trivalente tipos A & B (virion completo), vacuna del virus de encefalitis Japones (inactivado), vacuna de enfermedad de Lyme (OspA recombinante), vacuna del virus de sarampión, paperas y rubéola (vivo), vacuna del virus de sarampión, y paperas y rubéola (vivo atenuado), vacuna del virus de sarampión (vivo atenuado), vacuna de polisacárido meningococcal, vacuna de virus de sarampión, (vivo), vacuna de plaga,

vacuna pneumococcal (polivalente), vacuna poliovirus (inactivada), vacuna poliovirus (vivo, oral, trivalente), vacuna de rabia (adsorbida), vacuna de rabia (célula diploide humana), vacuna de virus de rubéola y sarampión (vivo), vacuna de virus de rubéola (vivo, atenuado), toxoide de tétanos (adsorbido) toxoide de tétanos (fluido), vacuna de tifoidea (oral), vacuna de tifoidea (parenteral), vacuna de polisacárido tifoidea Vi, vacuna de virus de varicela, vacuna de fiebre amarilla. Los al menos una antitoxina o antiveneno pueden ser al menos una seleccionada de antiveneno de araña viuda negra, antiveneno Crotalidae (polivalente), antitoxina de difteria (equina), antiveneno de *Micrurus fulvius*). El al menos un suero inmune puede ser al menos uno seleccionado de globulina inmune de citomegalovirus (intravenosa), globulina inmune de hepatitis B (humana), intramuscular de globulina inmune, intravenosa de globulina inmune, globulina inmune de rabia (humana), intravenosa de globulina inmune de virus sincitial respiratorio (humana), globulina inmune $Rh_0(D)$, intravenosa de globulina inmune $Rh_0(D)$ (humana), globulina inmune de tétanos (humana), globulina inmune de varicela-zoster, Los al menos unos modificadores de respuesta biológica pueden ser la menos uno seleccionado de aldesleucina, GLP-1etina alfa, filgrastima, acetato de glatiramer por inyección, interferón alfacon-1, interferón alfa-2a (recombinante), interferón alfa-2b (recombinante), interferón beta-1a, interferón beta-1b (recombinante), interferón gamma-1b, clorhidrato de levamisol, oprelvekin, sargramostim. (Véase, por ejemplo, 964-1040 de Nursing 2001 Drug Handbook).

Los al menos unos anti-infectivos oftálmicos se pueden seleccionar de bacitracina, cloranfenicol, clorhidrato de ciprofloxacina, eritromicina, sulfato de gentamicina, ofloxacina al 0.3%, sulfato de polimixina B, sulfacetamida de sodio al 10%, sulfacetamida de sodio 15%, sulfacetamida de sodio al 30%, trobramicina, vidarabina. Los al menos unos anti-inflamatorios oftálmicos pueden ser al menos uno seleccionado de dexametasona, fosfato de dexametasona sódico, diclofenac de sodio al 0.1%, fluorometolona, flurbiprofeno sódico, trometamina de cetorolac, acetato de prednisolona (supresión), fosfato de prednisolona sódico (solución). El al menos un miótico puede ser al menos uno seleccionado de cloruro de acetilocolina, carbacol (intraocular), carbacol (tópico), yoduro de ecotiofato, pilocarpina, clorhidrato de pilocarpina, nitrato de pilocarpina. El al menos un midriático puede ser al menos uno seleccionado de sulfato de atropina, clorhidrato de ciclopentolato, clorhidrato de epinefrina, borato de epinefrilo, bromhidrato de homatropina, clorhidrato de fenilefrina, bromhidrato de escopolamina, tropicamida. Los al menos unos vasoconstrictores oftálmicos pueden ser al menos uno seleccionado de clorhidrato de nafazolina, clorhidrato de oximetazolina, clorhidrato de tetrahidrozolina. Los al menos unos oftálmicos misceláneos pueden ser al menos uno seleccionado de clorhidrato de apraclonidina, clorhidrato de betaxolol, tartrato de brimonidina, clorhidrato de carteolol, clorhidrato de dipivefrina, clorhidrato de dorzolamida, difumarato de emedastina, fluoresceína de sodio, fumarato de cetotifeno, latanoprost, clorhidrato de levobunolol, clorhidrato de metipranolol, cloruro de

sodio (hipertónico), maleato de timolol. El al menos un ótico puede ser al menos uno seleccionado de ácido bórico, peróxido de carbamida, cloranfenicol, oleato-condensado de polipéptido trietanolamina. El al menos un fármaco nasal puede ser al menos uno seleccionado de dipriopanato de beclometasona, budesonida, sulfato de efedrina, clorhidrato de epinefrina, flunisolida, propionato de fluticasona, clorhidrato de nafzolina, clorhidrato de oximetazolina, clorhidrato de fenilefrina, clorhidrato de tetrahidrozolina, acetonida de triamcinolona, clorhidrato de xilometazolina. (Véase, por ejemplo, pp. 1041-97 de Nursing 2001 Drug Handbook).

Los al menos unos anti-infectivos locales pueden ser al menos uno seleccionado de aciclovir, anfotericina B, crema de ácido azeláico, bacitracin, nitrato de butoconazol, fosfato de clindamicina, clotrimazol, nitrato de econazol, eritromicina, sulfato de gentamicina, cetoconazol, acetato de mafenida, metronidazol (tópico), nitrato de miconazol, mupirocina, clorhidrato de naftifina, sulfato de neomicina, nitrofurazona, nistatina, sulfadiazina de plata, clorhidrato de terbinafina, terconazol, clorhidrato de tetraciclina, tioconazol, tolnaftato. El al menos un escabicida o pediculicida puede ser al menos uno seleccionado de crotamiton, lindano, permetrina, y piretrinas. El al menos un corticosteroide tópico puede ser al menos uno seleccionado de dipropionato de betametasona, valerato de betametasona, propionato de clobetasol, desonida, desoximetasona, dexametasona, fosfato de dexametasona sódico, diacetato de diflorasona, acetonida de fluocinolona, fluocinonida, flurandrenolida, propionato de fluticasona, halcionida,

hidrocortisona, acetato de hidrocortisona, butirato de hidrocortisona, valerato de hidrocortisona, furoato de mometasona, acetonida de triamcinolona. (Véase, por ejemplo, pp. 1098-1136 de Nursing 2001 Drug Handbook).

Los al menos una vitamina o mineral pueden ser al menos uno seleccionado de vitamina A, complejo de vitamina B, cianocobalamina, ácido fólico, hidroxocobalim, leucovorina de calcio, niacina, niacinamida, clorhidrato de piridoxina, riboflavina, clorhidrato de tiamina, vitamina C, vitamina D, colecalciferol, ergocalciferol, análogo de vitamina D, doxercalciferol, paricalcitol, vitamina E, análogo de vitamina K, fitonadiona, fluoruro de sodio, fluoruro de sodio (tópico), elementos de traza, cromo, cobre, yodo, manganeso, selenio, zinc. Los al menos unos calóricos pueden ser al menos unos seleccionado de infusiones de aminoácido (cristalina), infusiones de aminoácido en dextrosa, infusiones de aminoácido con electrolitos, infusiones de aminoácido con electrolitos en dextrosa, infusiones de aminoácido para deficiencia hepática, infusiones de aminoácido para tensión metabólica alta, infusiones de aminoácido para deficiencia renal, dextrosa, emulsiones de grasa, triglicéridos de cadena media. (Véase, por ejemplo, 1137-63 de Nursing 2001 Drug Handbook).

La presente invención también provee al menos una de cualquier cantidad adecuada y/o efectiva de una composición o composición farmacéutica que comprende al menos un mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o variante, además comprende opcionalmente una cantidad efectiva de al menos un compuesto adicional, proteína o composición

seleccionada de al menos un antagonista de TNF (por ejemplo, pero sin limitarse a antagonista químico o de proteína de TNF, anticuerpo o fragmento policlonal o monoclonal de TNF, receptor de TNF soluble (por ejemplo, p 55, p70 o p 85) o fragmento, polipéptidos de fusión de los mismos, o un antagonista de TNF de molécula pequeña, por ejemplo proteína I o II de unión de TNF (TBP-1 o TBP-II), nerelimonmab, infliximab, enteracept, CDP-571, CDP-870, afelimomab, lenercept, y lo similar), un antirreumático (por ejemplo, metotrexato, auranofina, aurotioglucosa, azatioprina, etanercept, tiomalato de oro sódico, sulfato de hidroxicloroquina, leflunomida, sulfasalzina), un relajante muscular, un narcótico, un fármaco inflamatorio no esteroidal (NSAID), un analgésico, un anestésico, un sedante, un anestésico local, un bloqueador neuromuscular, un antimicrobiano (por ejemplo, aminoglicósido, un anti-fúngico, un anti-parasítico, un antiviral, un carbapenem, cefalosporina, un fluorquinolona, un macrólido, una penicilina, una sulfonamida, una tetraciclina, otro anti-microbiano), un anti-psoriático, un corticosteroide, un esteroide anabólico, un agente relacionado con diabetes, un mineral, un nutricional, un agente de tiroides, una vitamina, una hormona relacionada con calcio, un antidiarreico, un antitusivo, un antiemético, un anti-úlcera, un laxante, un anticoagulante, una eritropieitina (por ejemplo, apoetina alfa), un filgrastim (por ejemplo, G-CSF, Neupogen), un sargramostim (GM-CSF, Leucina), una inmunización, una inmunoglobulina, un inmunosupresor (por ejemplo, basiliximab, ciclosporina, daclizumab), una hormona de crecimiento, un fármaco de reemplazo de hormona, un modulador del receptor estrógeno, un

midriático, un cicloplégico, un agente de alquilación, un antimetabolito, un inhibidor mitótico, un radiofarmacéutico, un antidepresivo, agente antimaníaco, un anti-sicótico, un ansiolítico, un hipnótico, un simpatomimético, un estimulante, donepezil, tacrina, una medicación de asma, un agonista beta, un esteroide inhalado, un inhibidor de leucotrieno, una metilxantina, un cromolin, una epinefrina o análogo, dornasa alfa (Pulmozima), una citocina o un antagonista de citocina. Ejemplos no limitantes de dichas citocinas incluyen, pero no se limitan a, cualquiera de IL-1 a IL-3. Dosificaciones adecuadas son bien conocidas en la técnica. Véase, por ejemplo, Wells, et al., eds., Pharmacotherapy Handbook, 2^2 edición, Appleton and Lange, Stamford, CT (2000); PDR Pharmacopoeia, Tarascon Pocket Pharmacopoeia 2000, Deluxe Edition, Tarascon Publishing, Loma Linda, CA (2000), cada una cuyas referencias se incorpora totalmente aquí para referencia.

Dichas composiciones también pueden incluir moléculas de toxinas que son asociadas, unidas, co-formuladas o co-administradas con al menos un anticuerpo o polipéptido de la presente invención. La toxina puede opcionalmente actuar para matar selectivamente la célula patológica o tejido. La célula patológica puede ser un cáncer u otra célula. Dichas toxinas pueden ser, pero no limitarse a, toxina purificada o recombinante o fragmento de toxina que comprende al menos un dominio citotóxico funcional de toxina, por ejemplo, seleccionado de al menos una de ricina, toxina de difteria, una toxina de veneno, o una toxina bacteriana. El término toxina también incluye ambas endotoxinas y exotoxinas producidas por cualquier bacteria o virus de origen

natural, mutante o recombinante que pueden causar cualquier condición patológica en humanos y otros mamíferos, incluyendo choque de toxina, que pueden resultar en la muerte. Dichas toxinas pueden incluir, pero no limitarse a, enterotoxina calor-lábil *E. coli* enterotoxigénica (LT), enterotoxina calor-estable (ST), citotoxina *Shigella*, enterotoxinas *Aeromonas*, toxina-1 de síndrome de choque tóxico (TSST-1), enterotoxina A estafilococcal (SEA), B (SEB), o C (SEC), enterotoxinas estreptococcales y lo similar. Dicha bacteria incluye, pero no se limitan a, cepas de especies de *E- coli* enterotoxigénica (ETEC), *E. coli* enterohemorrágica (por ejemplo cepas de serotipo 0157:H7), especies de estafilococo (por ejemplo, *Staphylococcus aureus, Staphylococcus pyogenes*) especies *Shigella* (por ejemplo, *Shigella dysenteriae, Shigella flexneri, Shigella boydii,* y *Shigella sonnei),* especie *Salmonella* (por ejemplo, *Salmonella typhi, Salmonella cholera-suis, Salmonella enteritidis*), especies *Clostridium* (por ejemplo, *Clostridium perfringens, Clostridium dificile, Clostridium botulinum*), especies *Camphlobacter* (por ejemplo, *Camphlobacter jejuni, Camphlobacter fetus),* especies *Heliobacter*, (por ejemplo, *Heliobacter pylori*), especies *Aeromonas* (por ejemplo, *Aeromonas sobria, Aeromonas hydrophila, Aeromonas caviae*), especies *Pleisomonas shigelloides*, *Yersina enterocolitica*, *Vibrios* (por ejemplo, *Vibrios cholerae, Vibrios parahemolyticus*), especies *Klebsiella*, *Pseudomonas aeruginosa*, y *Streptococci.* Véase por ejemplo, Stein, ed., INTERNAL MEDICINE, 3a ed., pp 1-13, Little, Brown and Co., Boston, (1990); Evans et al., eds., Bacterial Infections of Humans: Epidemiology and Control,

2a. Ed., pp 239-254, Plenum Medical Book Co., New York (1991); Mandell et al, Principles and Practice of Infectious Diseases, 3d. Ed., Churchill Livingstone, New York (1990); Berkow et al, eds., The Merck Manual, 16a edición, Merck and Co., Rahway, N.J., 1992; Wood et al, FEMS Microbiology Immunology, 76:121-134 (1991); Marrack et al, Science, 248:705-711 (1990), los contenidos de cuyas referencias se incorporan aquí para referencia.

El mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o composiciones variantes de la presente invención pueden además comprender al menos uno de cualquier auxiliar adecuado, tal como, pero sin limitarse a, diluyente, aglutinante, estabilizador, reguladores de pH, sales, solventes lipofílicos, preservativos, adyuvantes o lo similar. Auxiliares farmacéuticamente aceptables son preferidos. Ejemplos no limitantes de, y métodos de preparación de dichas soluciones estériles son bien conocidos en la técnica, tal como, pero sin limitarse a, Gennaro, Ed., Remington's Pharmaceutical Sciences, 18a Edition, Mack Publishing Co. (Easton, PA) 1990. Portadores farmacéuticamente aceptables pueden ser rutinariamente seleccionados que son adecuados para el modo de administración, solubilidad y/o estabilidad de la composición de mimeticuerpo de GLP-1 como es bien conocido en la técnica como se describe aquí.

Excipientes farmacéuticos y aditivos útiles en la presente composición incluyen pero no se limitan a proteínas, péptidos, aminoácidos, lípidos, y carbohidratos (por ejemplo, azúcares, incluyendo monosacáridos, di-, tri-, tetra- y oligosacáridos; azúcares derivados tales como alditoles, ácidos

aldónicos, azúcares esterificados y lo similar; y polisacáridos o polímeros de azúcar), que pueden estar presentes sencillamente o en combinación, comprendiendo solo o en combinación 1-99.99% en peso o volumen. Excipientes de proteína ejemplares incluyen albúmina de suero tal como albúmina de suero humano (HSA), albúmina humana recombinante (rHA), gelatina, caseína, y lo similar. Aminoácido/mimeticuerpo de GLP-1 representativo o porción especificada o componentes variantes, que también pueden funcionar en una capacidad reguladora de pH, incluyen alanina, glicina, arginina, betaina, histidina, ácido glutámico, ácido aspártico, cisteina, lisina, leucina, isoleucina, valina, metionina, fenilalanina, aspartame, y lo similar. Un aminoácido preferido es glicina.

Excipientes de carbohidratos adecuados para el uso de la invención incluyen, por ejemplo, monosacáridos tales como fructosa, maltosa, galactosa, glucosa, D-manosa, sorbosa, y lo similar; disacáridos tales como lactosa, sucrosa, trehalosa, celobiosa, y lo similar; polisacáridos, tal como rafinosa, melezitosa, maltodextrinas, dextranos, almidones, y lo similar; y alditoles, tal como manitol, xilitol, maltitol, lactitol, xilitol sorbitol (glucitol), mioinositol y lo similar. Excipientes de carbohidratos preferidos para el uso en la presente invención son manitol, trehalosa y rafinosa.

Composiciones de mimeticuerpo de GLP-1 también pueden incluir un regulador de pH o un agente de ajuste de pH; usualmente, el regulador de pH es una sal preparada de un ácido orgánico o base. Reguladores de pH representativos incluyen sales ácidas orgánicas tal como

sales de ácido cítrico, ácido ascórbico, ácido glucónico, ácido carbónico, ácido tartárico, ácido succínico, ácido acético, o ácido ftálico; Tris, clorhidrato de trometamina, o reguladores de pH de fosfato. Reguladores de pH preferidos para el uso en las presentes composiciones son sales de ácidos orgánicos tal como citrato.

De manera adicional, el mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o composiciones variantes de la invención pueden incluir excipientes poliméricos/aditivos tal como un polivinilpirrolidonas, ficolls (un azúcar polimérico), dextratos (por ejemplo, ciclodextrinas, tal como 2-hidroxipropil-β-ciclodextrina), polietilenglicoles, agentes saborizantes, agentes antimicrobianos, edulcorantes, antioxidantes, agentes antiestáticos, agentes tensioactivos (por ejemplo, polisorbatos tal como "TWEEN 20" y "TWEEN 80"), lípidos (por ejemplo, fosfolípidos, ácidos grasos), esteroides (por ejemplo colesterol), y agentes de quelación (por ejemplo, EDTA).

Estos y excipientes farmacéuticos conocidos adicionales y/o aditivos adecuados para el uso en las composiciones de mimeticuerpo de GLP-1 de acuerdo con la invención son conocidos en la técnica, por ejemplo, como se enlista en "Remington: The Science & Practice of Pharmacy" 19a edición, Williams & Williams (1995) y en "Physician's Desk Reference", 52a, ed., Medical Economics, Montvale, NJ (1998), las descripciones de los cuales se incorporan totalmente aquí para referencia. Materiales portadores o excipientes preferidos son carbohidratos (por ejemplo, sacáridos y alditoles) y reguladores de pH (por ejemplo citrato) o agentes poliméricos.

Formulaciones

Como se hace notar anteriormente, la invención se provee para formulaciones estables, que pueden preferiblemente incluir un regulador de pH adecuado con solución salina o una sal elegida, así como soluciones preservadas opcionales y formulaciones que contienen un preservativo así como formulaciones preservadas multi-uso adecuadas para uso farmacéutico o veterinario, que comprenden al menos un mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o variante en una formulación aceptable farmacéuticamente. Formulaciones preservadas contienen al menos un preservativo conocido u opcionalmente seleccionado del grupo que consiste de al menos un fenol, m-cresol, p-cresol, o-cresol, clorocresol, alcohol bencílico, nitrito fenilmercurico, fenoxietanol, formaldehído, clorobutanol, cloruro de magnesio (por ejemplo, hexahidrato), alquilparabeno (metilo, etilo, propilo, butilo y lo similar), cloruro de benzalconio, cloruro de bencetonio, dehidroacetato de sodio y timerosal, o mezclas de los mismos en un diluyente acuoso. Cualquier concentración adecuada o mezcla se puede usar como se conoce en la técnica, tal como 0.001-5% o cualquier intervalo o valor en este, tal como, pero sin limitarse a 0.001, 0.003, 0.005, 0.009, 0.01, 0.02, 0.03, 0.05, 0.09, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4., 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1.0, 1.1, 1.2, 1.3, 1.4, 1.5, 1.6, 1.7, 1.8, 1.9, 2.0, 2.1, 2.2, 2.3, 2.4, 2.5, 2.6, 2.7, 2.8, 2.9, 3.0, 3.1, 3.2, 3.3, 3.4, 3.5, 3.6, 3.7, 3.8, 3.9, 4.0, 4.3, 4.5, 4.6, 4.7, 4.8, 4.9, o cualquier intervalo o valor entre este. Ejemplos no limitantes incluyen, sin preservativo, 0.1-2% de m-cresol (por ejemplo 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.9, 1.0%), 0.1-3% de alcohol bencílico (por ejemplo, 0.5, 0.9, 1.1,

1.5, 1.9, 2.0, 2.5%), 0.001-0.5% de timerosal (por ejemplo, 0.005, 0.01), 0.001-2.0% de fenol (por ejemplo, 0.05, 0.25, 0.28, 0.5, 0.9, 1.0%), 0.0005-1.0% de alquilparaben(os) (por ejemplo, 0.00075, 0.0009, 0.001, 0.002, 0.005, 0.0075, 0.009, 0.01, 0.02, 0.05, 0.075, 0.09, 0.1, 0.2, 0.3, 0.5, 0.75, 0.9, 1.0%) y lo similar.

Como se hace notar anteriormente, la invención provee un articulo de fabricación, que comprende el material de envasado y al menos un frasco que comprende una solución de al menos un mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o variante con los reguladores de pH prescritos y/o preservativos, opcionalmente en un diluyente acuoso, en donde dicho material de envasado comprende una etiqueta que indica que dicha solución se puede mantener sobre un periodo de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 9, 12, 18, 20, 24, 30, 36, 40, 48, 54, 60, 66, 72 horas o más. La invención además comprende un articulo de fabricación, que comprende material de envasado, un primer frasco que comprende liofilizar al menos un mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o variante, y un seguido frasco que comprende un diluyente acuoso de regulador de pH prescrito o preservativo, en donde dicho material de envasado comprende una etiqueta que instruye a un paciente a reconstituir al menos un mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o variante en el diluyente acuoso para formar una solución que se puede mantener sobre un periodo de veinticuatro horas o más.

El al menos un mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o variante usado de acuerdo con la presente invención se puede producir por

medios recombinantes, incluyendo de células mamíferas o preparaciones transgénicas, o se pueden purificar de otras fuentes biológicas, como se describe aquí o como se conoce en la técnica.

El intervalo de cantidades de al menos un mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o variante en el producto de la presente invención incluye cantidades producidas en reconstitución, si en un sistema húmedo/seco, las concentraciones de aproximadamente 1.0 μg/ml a aproximadamente 1000 mg/ml, aunque las concentraciones más bajas o más altas son operables y son dependientes del vehículo de suministro destinado, por ejemplo, las formulaciones de solución diferirán del parche transdérmico, pulmonar, transmucosal, u osmótico o métodos de micro bomba.

Preferiblemente, el diluyente acuoso opcionalmente además comprende un preservativo farmacéuticamente aceptable. Preservativos preferidos incluyen aquellos seleccionados del grupo que consiste de fenol, m-cresol, p-cresol, o-cresol, clorocresol, alcohol bencílico, alquilparaben (metilo, etilo, propilo, butilo y lo similar), cloruro de benzalconio, cloruro de bencetonio, dihidroacetato de sodio y timerosal, o sus mezclas. La concentración del preservativo usado en la formulación es una concentración suficiente para producir un efecto anti-microbiano. Dichas concentraciones son dependientes del preservativo seleccionado y son fácilmente determinados por el experto en la técnica.

Otros excipientes, por ejemplo, agentes de isotonicidad, reguladores de pH, antioxidantes, intensificadores preservativos, pueden ser

opcionalmente y preferiblemente añadidos al diluyente. Un agente de isotonicidad, tal como glicerina, es comúnmente usado en concentraciones conocidas. Un regulador de pH tolerado fisiológicamente es preferiblemente añadido para mejorar el control de pH. Las formulaciones pueden cubrir un amplio intervalo de pHs, tal como de aproximadamente pH 4 a aproximadamente pH 10, e intervalos preferidos de aproximadamente pH 5 a aproximadamente pH 9, y un intervalo más preferido de aproximadamente 6.0 a aproximadamente 8.0. Preferiblemente las formulaciones de la presente invención tienen el pH entre aproximadamente 6.8 y aproximadamente 7.8. Reguladores de pH preferidos incluyen reguladores de pH de fosfato, más preferiblemente fosfato de sodio, particularmente solución salina regulada de pH con fosfato (PBS).

Otros aditivos, tal como solubilizadores aceptables farmacéuticamente tipo Tween 20 (monolaurato de polioxietileno (20) sorbitan), Tween 40 (monopalmitato de polioxietileno (20) sorbitan), Tween 80 (monooleato de polioxietileno (20) sorbitan), Pluronico F68 (copolímeros de bloque de polioxietileno polioxipropileno), y PEG (polietilenglicol) o agentes tensioactivos no iónicos tal como polisorbato 20 u 80 o poloxamero 184 o 188, polioles Pluronic®, otros copolímeros de bloque, y queladores tales como EDTA y EGTA pueden ser opcionalmente añadidos a las formulaciones o composiciones para reducir la agregación. Estos aditivos son particularmente útiles si una bomba o contenedor de plástico se usan para administrar la formulación. La presencia de agente tensioactivo farmacéuticamente

aceptable mitiga la predisposición de la proteína a agregarse.

Las formulaciones de la presente invención se pueden preparar mediante un procedimiento que comprende mezclar al menos un mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o variante y un preservativo seleccionado del grupo que consiste de fenol, m-cresol, p-cresol, o-cresol, clorocresol, alcohol bencílico, alquilparaben (metilo, etilo, propilo, butilo y lo similar), cloruro de benzalconio, cloruro de bencetonio, dehidroacetato de sodio y trimerosal o sus mezclas en un diluyente acuoso. La mezcla de al menos un mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o variante y preservativo en un diluyente acuoso se lleva a cabo usando disolución convencional y procedimientos de mezclado. Para preparar una formulación adecuada, por ejemplo, una cantidad medida de al menos un mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o variante en solución regulada de pH se combina con el preservativo deseado en una solución regulada de pH en cantidades suficientes para proveer la proteína y preservativo en las concentraciones deseadas. Variaciones de este procedimiento se pueden reconocer por una persona con experiencia ordinaria en la técnica. Por ejemplo, el orden de los componentes que serán agregados, si se usan aditivos adicionales, la temperatura y pH a los cuales la formulación se prepara, son todos los factores que pueden ser optimizados para la concentración y medios de administración usados.

Las formulaciones reclamadas se pueden proveer a pacientes como soluciones claras o como frascos dobles que comprenden un frasco de

al menos un mimeticuerpo de GLP-1 liofilizado o porción especificada o variante que se reconstituye con un segundo frasco que contiene agua, un preservativo y/o excipientes, preferiblemente un regulador de pH de fosfato y/o solución salina y una sal elegida, en un diluyente acuoso. Ya sea un frasco de solución sencilla o frasco doble que requiere la reconstitución se pueden re-usar múltiples veces y pueden bastar para unos ciclos sencillos o múltiples de tratamiento del paciente y de esta manera pueden proveer un régimen de tratamiento más conveniente que el disponible actualmente.

Los artículos reclamados presentes de fabricación son útiles para administración sobre un periodo de inmediatamente veinticuatro horas o más. En consecuencia, los artículos reclamados presentemente de fabricación ofrecen ventajas significantes al paciente. Las formulaciones de la invención pueden opcionalmente ser almacenadas de manera segura a temperaturas de aproximadamente 2 a aproximadamente 40°C y retener la actividad biológica de la proteína por periodos extendidos de tiempo, de esta manera, permitiendo una etiqueta de envasado que indica que la solución se mantiene y/o usa sobre un periodo de 6, 12, 18, 24, 36, 48, 72 o 96 horas o más. Si se usa el diluyente preservado, dicha etiqueta puede incluir el uso hasta de al menos uno de 1-12 meses, un medio, uno y un medio y/o dos años.

Las soluciones de al menos un mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o variante en la invención se pueden preparar por un procedimiento que comprende mezclar al menos un mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o variante en un diluyente acuoso. El mezclado se lleva a

cabo usando disolución convencional y procedimientos de mezclado. Para preparar un diluyente adecuado, por ejemplo, una cantidad medida de al menos un mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o variante en agua o regulador de pH se combina en cantidades suficientes para proveer la proteína y opcionalmente un preservativo o regulador de pH en las concentraciones deseadas. Las variaciones de este procedimiento pueden ser reconocidas por una persona con experiencia ordinaria en la técnica. Por ejemplo, el orden de los componentes que serán agregados, si se usan aditivos adicionales, la temperatura y pH a los cuales la formulación se prepara, son todos factores que se pueden optimizar para la concentración y medios de administración usados.

Los productos reclamados se pueden proveer a pacientes como soluciones claras o como frascos dobles que comprenden un frasco de al menos un mimeticuerpo de GLP-1 liofilizado o porción especificada o variante que se reconstituye con un segundo frasco que contiene el diluyente acuoso. Ya sea un frasco de solución sencilla o frasco doble que requiere reconstitución se pueden re-usar múltiples veces y pueden bastar para unos ciclos sencillos o múltiples de tratamiento del paciente y de esta manera proveen un régimen más conveniente que el disponible actualmente.

Los productos reclamados se pueden proveer indirectamente a pacientes al proveer a farmacias, clínicas, u otras instituciones y servicios públicos, soluciones claras o frascos dobles que comprenden un frasco de al menos un mimeticuerpo de GLP-1 liofilizado o porción especificada o variante

que se reconstituye con un segundo frasco que contiene el diluyente acuoso. La solución clara en este caso puede ser hasta un litro o aun grande en tamaño, proporcionando un reservorio grande del cual las porciones más pequeñas de al menos un mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o solución variante pueden ser recuperadas una o múltiples veces para transferirse en frascos más pequeños y proporcionarse por la farmacia o clínica a sus consumidores y/o pacientes.

Dispositivos reconocidos que comprenden estos sistemas de frasco sencillo incluyen aquellos dispositivos inyectores de pluma para suministro de una solución tal como Humaject®, NovoPen®, B-D®Pen, AutoPen®, y OptiPen®. Dispositivos reconocidos que comprenden un sistema de frasco doble incluyen aquellos sistemas inyectores de pluma para la reconstitución de un fármaco liofilizado en un cartucho para suministro de solución reconstituida tal como el HumatroPen®.

Los productos presentemente reclamados incluyen material de envasado. El material de envasado provee, además de la información requerida por las agencias reguladoras, las condiciones bajo las cuales el producto se puede usar. El material envasado de la presente invención provee instrucciones para el paciente para reconstituir al menos un mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o variante en el diluyente acuoso para formar una solución y usar la solución sobre un periodo de 2-24 horas o mayor para el producto húmedo/seco del frasco dos. Para el producto de solución, del frasco sencillo, la etiqueta indica que dicha solución se puede usar sobre un

periodo de 2-24 horas o mayor. Los productos reclamados presentemente son útiles para el uso del producto farmacéutico humano.

Las formulaciones de la presente invención se pueden preparar por un procedimiento que comprende mezclar al menos un mimeticuerpo de GLP-1 o porción específica o variante y un regulador de pH seleccionado, preferiblemente un regulador de pH de fosfato que contiene solución salina o una sal elegida. La mezcla de al menos un mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o variante y regulador de pH en un diluyente acuoso se lleva a cabo usando disolución convencional y procedimientos de mezclado. Para preparar una formulación adecuada, por ejemplo, una cantidad medida de al menos un mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o variante en agua o regulador de pH se combina con el agente regulador de pH deseado en agua en cantidades suficientes para proveer la proteína y regulador de pH en las concentraciones deseadas. Las variaciones de este procedimiento se pueden reconocer por una persona con experiencia ordinaria en la técnica. Por ejemplo, el orden de los componentes que serán agregados, si se usan aditivos adicionales, la temperatura y pH a los cuales la formulación se prepara, son todos los factores que se pueden optimizar para la concentración y medios de administración usados.

Las formulaciones estables o preservadas reclamadas se pueden proveer a pacientes como soluciones claras o como frascos dobles que comprenden un frasco de al menos un mimeticuerpo de GLP-1 liofilizado o porción especificada o variante que se reconstituye con un segundo frasco

que contiene un preservativo o regulador de pH y excipientes en un diluyente acuoso. Ya sea un frasco de solución sencilla o frasco doble que requiere reconstitución se pueden re-usar múltiples veces y pueden bastar para unos ciclos sencillos o múltiples de tratamiento del paciente y de esta manera proveen un régimen de tratamiento más conveniente que el disponible actualmente.

Al menos un mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o variante en ya sea las formulaciones estables o preservadas o soluciones descritas aquí, se pueden administrar a un paciente de acuerdo con la presente invención vía una variedad de métodos de suministro incluyendo inyección SC o IM; transdérmico pulmonar, transmucosal, implante, bomba osmótica, cartucho, micro bomba, u otros medios apreciados por la persona con experiencia, así como bien conocidos en la técnica.

Aplicaciones terapéuticas

La presente invención para mimeticuerpos también provee un método para la modulación o tratamiento de diabetes, diabetes mellitus tipo I o tipo II, incluyendo inicio adulto o juvenil, dependiente de insulina, no dependiente de insulina, y lo similar, incluyendo los signos y síntomas asociados, tal como pero sin limitarse a, resistencia a la insulina, hiperglicemia, hipoglicemia, pancreatitis, síndrome de Sushing, acanthosis nigricans, diabetes lipoatrófica, retinopatía, nefropatía, polineuropatia, mononeuropatia, neuropatía autonómica, úlceras, úlceras de pie, problemas

de articulaciones, infecciones (por ejemplo fúngicas o bacterianas), y lo similar, en una célula, tejido, órgano, animal o paciente.

La presente invención también provee un método de modulación o tratamiento de al menos una enfermedad relacionada inmune asociada con diabetes, en una célula, tejido, órgano, animal o paciente incluyendo, pero sin limitarse a, por lo menos una diabetes mellitus tipo I y tipo II, incluyendo inicio de adulto o juvenil, dependiente de insulina, no dependiente de insulina, y lo similar, incluyendo los signos y síntomas asociados, tal como pero sin limitarse a, resistencia a la insulina, hiperglicemia, hipoglicemia, pancreatitis, síndrome de Sushing, acanthosis nigricans, diabetes lipoatrófica, retonopatía, nefropatía, polineuropatia, mononeuropatía, neuropatía autonómica, úlceras, úlceras de pie, problemas de articulaciones, infecciones (por ejemplo fúngicas o bacterianas), y lo similar. Véase por ejemplo, el Merck Manual 12a-17a ediciones, Meck & Company, Rahway, NJ (1972, 1977, 1982, 1987, 1992, 1999), Pharmacotherapy Handbook, Wells et al., eds., Segunda edición, Appleton and Lange, Stamford, Conn. (1998, 2001), cada uno incorporado totalmente para referencia.

Dicho método puede comprender opcionalmente la administración de una cantidad efectiva de al menos una composición o composición farmacéutica que comprende al menos un mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o variante a una célula, tejido, órgano, animal o paciente en necesidad de dicha modulación, tratamiento o terapia.

La presente invención también provee un método de modulación

o tratamiento de al menos una enfermedad cardiovascular en una célula, tejido, órgano, animal, o paciente, incluyendo, pero sin limitarse a, por lo menos uno de síndrome de impacto cardiaco, infarto de miocardio, deficiencia cardiaca congestiva, apoplejía, apoplejía isquémica, hemorragia, arteriosclerosis, aterosclerosis, enfermedad ateriosclerótica diabética, hipertensión, hipertensión arterial, hipertensión renovascular, sincope, choque, sífilis del sistema cardiovascular, deficiencia cardiaca, cor pulmonale, hipertensión pulmonar primaria, arritmias cardiacas, latidos ectópicos atriales, palpitación atrial, fibrilación atrial (sostenida o paroxismal), taquicardia atrial caótica o multifocal, taquicardia de QRE estrecho regular, arritmias específicas, fibrilación ventricular, arritmias de haz de His, bloqueo atrioventricular, bloqueo de rama de haz, trastornos isquémicos de miocardio, enfermedad de la arteria coronaria, angina de pecho, infarto de miocardio, cardiomiopatía, cardiomiopatía congestiva dilatada, cardiomiopatía restrictiva, enfermedades cardiacas valvulares, endocarditis, enfermedad pericardial, tumores cardiacos, aneurismas aórticos y periféricos, disección aórtica, inflamación de la aorta, oclusión de la aorta abdominal y sus ramas, trastornos vasculares periféricos, trastornos arteriales oclusivos, enfermedad aterosclerótica periférica, tromboangitis obliterante, trastornos arteriales periféricos funcionales, fenómeno y enfermedad de Raynaud, acrocianosis, eritromelalgia, enfermedades venosas, trombosis venosa, venas varicosas, fístula arteriovenosa, linfedema, lipedema, angina inestable, lesión de reperfusión, síndrome post bomba, lesión isquemia-reperfusión, y lo similar.

Dicho método puede opcionalmente comprender la administración de una cantidad efectiva de una composición o composición farmacéutica que comprende al menos un mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o variante a una célula, tejido, órgano, animal o paciente en necesidad de dicha modulación, tratamiento o terapia.

Cualquier método de la presente invención puede comprender la administración de una cantidad efectiva de una composición o composición farmacéutica que comprende al menos un mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o variante a una célula, tejido, órgano, animal o paciente en necesidad de dicha modulación, tratamiento o terapia. Dicho método puede opcionalmente comprender además la co-administración o terapia de combinación para el tratamiento de dichas enfermedades inmunes, en donde la administración de dicho al menos un mimeticuerpo de GLP-1, porción especificada o su variante, además comprende la administración, antes concurrentemente, y/o después, de al menos uno seleccionado de al menos un antagonista de TNF (por ejemplo, pero sin limitarse a un anticuerpo o fragmento de TNF, un receptor o fragmento de TNF soluble, proteínas de fusión de los mismos, o un antagonista de TNF de molécula pequeña), un antirreumático, un relajante muscular, un narcótico, un fármaco anti-inflamatorio no esteroidal (NSAID), un analgésico, un anestésico, un sedante, un anestésico local, un bloqueador neuromuscular, un anti-microbiano (por ejemplo, aminoglicósido, un anti-fúngico, un anti-parasítico, un anti-viral, un carbapenem, cefalosporina, un flurorquinolona, una macrolida, una penicilina,

una sulfonamida, una tetraciclina, otro anti-microbiano), un antipsoriático, un corticosteroide, un esteroide anabólico, un agente relacionado con diabetes, un mineral, un nutricional, un agente de tiroides, una vitamina, una hormona relacionada con calcio, un antidiarreico, un antitusivo, un antiemético, un anti-úlcera, un laxante, un anticoagulante, un eritropieitina (por ejemplo GLP-1 etina alfa), un filgrastim (por ejemplo, G-CSF, Neupogen), un sargramostim ((GM-CSF, Leucina), una inmunización, una inmunoglobulina, un inmunosupresor (por ejemplo, basiliximab, ciclosporina, daclizumab), una hormona de crecimiento, un fármaco de reemplazo de la hormona de crecimiento, un modulador del receptor de estrógeno, un midriático, un cicloplégico, un agente de alquilación, un antimetabolito, un inhibidor mitótico, un radiofarmacéutico, un antidepresivo, un agente antimaníaco, un anti-sicótico, un ansiolítico, un hipnótico, un simpatomimético, un estimulante, donepezil, tacrina, una medicación de asma, un agonista beta, un esteroide inhalado, un inhibidor de leucotrieno, una metilxantina, un cromolin, una epinefrina o análogo, dornase alfa (Pulmozima) una citocina o un antagonista de citocina. Dosificaciones adecuadas son bien conocidas en la técnica. Véase por ejemplo, Wells et al., eds., Pharmacotherapy Handbook, 2ª Edición, Appleton and Lange, Stamford, CT (2000); PDR Pharmacopoeia, Tarascon Pocket Pharmacopoeia 2000, Deluxe Edition, Tarascon Publishing, Loma Linda, CA (2000), cada una de cuyas referencias son totalmente incorporadas aquí para referencia.

Mimeticuerpos también se pueden usar *ex vivo,* tal como en

cultivo de médula autóloga. Brevemente, la medula ósea se remueve de un paciente antes de quimioterapia y se trata con TPO y/o GLP-1, opcionalmente en combinación con mimeticuerpos, opcionalmente en combinación con una o más citocinas adicionales. La médula tratada después se regresa al paciente después de quimioterapia para acelerar la recuperación de la médula. Además, TPO, sólo y en combinación con mimeticuerpos GLP-1 y/o GLP-1, también se pueden usar para la expansión *ex vivo* de médula de células progenitoras de sangre periférica (PBPC). Antes del tratamiento de quimioterapia, la medula se puede estimular con un factor de célula madre (SCF) o G-CSF para liberar las células progenitoras tempranas en la circulación periférica. Estos progenitores son opcionalmente colectados y concentrados de la sangre periférica y después tratados en cultivo con TPO y mimeticuerpos, opcionalmente en combinación con uno o más de otras citocinas, incluyendo pero sin limitarse a SCF, G-CSF, IL-3, GM-CSF, IL-6 o IL-11, para diferenciar y proliferar en cultivos de megacariocito de alta densidad, que son opcionalmente después regresados al paciente después de la quimioterapia de alta dosis. Las dosis de TPO para tratamiento *ex vivo* de médula ósea estarán en el intervalo de 100 pg/ml a 10 ng/ml, preferiblemente 500 pg/ml a 3 ng/ml. Las dosis de mimeticuerpos serán equivalentes en actividad para GLP-1 que se puede usar de 0.1 unidades/ml a 20 unidades/ml, preferiblemente de 0.5 unidades/ml a 2 unidades/ml, o cualquier intervalo o valor entre este.

Antagonistas de TNF adecuados para las composiciones, terapia

de combinación, co-administración, dispositivos y/o métodos de la presente invención (además comprendiendo al menos un anti-cuerpo, porción especificada y variante del mismo, de la presente invención), incluyen, pero no se limitan a, anticuerpos anti-TNF, fragmentos de unión de ligando de los mismos, y moléculas receptoras que se unen específicamente a TNF, compuestos los cuales previenen y/o inhiben la síntesis de TNF, liberación de TNF o su acción en células objetivo, tal como talidomida, tenidap, inhibidores de fosfodiesterasa (por ejemplo, pentoxifilina y rolipram), antagonistas del receptor de adenosina A2b e intensificadores del receptor de adenosina A2b; compuestos los cuales previenen y/o inhiben la señalización del receptor TNF, tal como inhibidores de proteína cinasa activada con mitógeno (MAP); compuestos los cuales bloquean y/o inhiben la escisión de TNF de membrana, tal como inhibidores de metaloproteinasa; compuestos los cuales bloquean y/o inhiben la actividad de TNF, tal como inhibidores de enzima de conversión de angiotensina (ACE) (por ejemplo, captopril); y compuestos los cuales bloquean y/o inhiben la producción y/o síntesis de TNF, tal como inhibidores de cinasa MAP.

Como se usa aquí, un "anticuerpo de factor de necrosis tumoral", "anticuerpo de TNF", "anticuerpo de αTNF", o fragmento y lo similar disminuye, bloquea, inhibe, anula o interfiere con la actividad de αTNF *in vitro*, *in situ* y/o preferiblemente *in vivo*. Por ejemplo, un anticuerpo humano de TNF adecuado de la presente invención puede unir TNFα e incluye anticuerpos anti-TNF, fragmentos de unión de antígeno de los mismos, y mutantes

especificados o sus dominios que unen específicamente a TNFα. Un anticuerpo o fragmento de TNF adecuado también puede disminuir, bloquear, anular, interferir, prevenir y/o inhibir ARN de TFA, ADN o síntesis de proteína, liberación de TNF, señalización del receptor de TNF, escisión de TNF de membrana, actividad de TNF, producción y/o síntesis de TNF.

Anticuerpo quimérico cA2 consiste de la región variable de unión de antígeno del anticuerpo IgG1 TNFα anti-humano de ratón de neutralización de alta afinidad, designado A2, y las regiones constantes de una inmunoglubilina kappa, IgG1 humana. La región Fc de IgG1 humana mejora la función del efector de anticuerpo alogenéico, incrementa la vida media del suero de circulación y disminuye la inmunogenicidad del anticuerpo. La avidez y especificidad epítope del anticuerpo quimérico cA2 se deriva de la región variable del anticuerpo de murina A2. En una modalidad particular, una fuente preferida de ácidos nucleicos que codifican la región variable del anticuerpo de murina A2 es la línea celular de hibridoma A2.

Quimérico A2 (cA2) neutraliza el efecto citotóxico de TNFα humano natural y recombinante en una manera dependiente de dosis. De ensayos de unión de anticuerpo quimérico cA2 y TNFα humano recombinante, la constante de afinidad de anticuerpo quimérico cA2 se calcula por ser 1.04 x $10^{10}M^{-1}$. Métodos preferidos para determinar la especificidad del anticuerpo monoclonal y la afinidad por inhibición competitiva se pueden encontrar en Harlow, *et al.*, *Antibodies: A Laboratory Manual,* Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, 1988; Colligan *et al.*, eds.,

Current Protocols in Immunology, Greene Publishing Assoc. and Wiley Interscience, New York, (1992-2003); Kozbor *et al.*, *Immunol. Today, 4*:72-79 (1983); Ausubel *et al.,* eds. *Current Protocols in Molecular Biology,* Wiley Interscience, New York (1987-2003); and Muller, *Meth. Enzymol., 92*:589-601 (1983), cuyas referencias son totalmente incorporadas aquí para referencia.

Ejemplos adicionales de anticuerpos anti-TNF monoclonales que se pueden usar en la presente invención se describen en la técnica (véase, por ejemplo la Patente de E.U.A No. 5,231,024; Möller, A. et al., Cytokine 2(3):162-169 (1990); Solicitud de E.U.A. No. 07/943,852 (registrada el 11 de septiembre, 1992); Rathjen et al., Publicación internacional No. WO 91/02078 (publicada el 21 de febrero, 1991); Rubin et al., GLP-1 Publicación de Patente No. 0 218 868 (publicada el 22 de abril, 1987); Yone et al., GLP-1 Publicación de Patente No. 0 288 088 (26 de octubre, 1988); Liang, et a., Biochem. Biophys, Res. Comm. 137:847-854 (1986); Meager, et al., Hybridoma 6:305-311 (1987); Fendly et al., Hybridoma 6:359-369 (1987); Bringman, et al., Hybridoma 6:489-507 (1987); e Hirai, et al., J. Immunol, Meth. 96:57-62 (1987), cuyas referencias son totalmente incorporadas aquí para referencia).

Moléculas del receptor TNF

Moléculas del receptor de TNF preferidas útiles en la presente invención son aquellas que unen TNFα con alta afinidad (véase, por ejemplo, Feldmann et al., Publicación Internacional No. WO 92/07076 (publicada el 30 de abril, 1992); Schall et al., Cell 61:361-370 (1990); y Loetscher et al., Cell

61:351-359 (1990), cuyas referencias son totalmente incorporadas aquí para referencia) y opcionalmente poseen baja inmunogenicidad. En particular, los receptores de superficie celular TNF de 55 kDa (p55 TNF-R) y de 75 kDa (p75 TNF-R) son útiles en la presente invención. Las formas truncadas de estos receptores, que comprenden los dominios extracelulares (ECD) de los receptores o sus porciones funcionales (véase, por ejemplo, Corcoran et al., Eur. J. Biochem 223:831-840 (1994)), también son útiles en la presente invención. Las forma truncadas de los receptores de TNF, que comprenden el ECD, se han detectado en orina y suero como proteínas de unión inhibidoras de TNFα de 30 kDa y 40 kDa (Engelmann, H. et al., J. Biol. Chem. 265:1531-1536 (1990)). Las moléculas multiméricas del receptor TNF y moléculas de fusión del inmunoreceptor TNF, y derivados y sus fragmentos o porciones, son ejemplos adicionales de moléculas del receptor de TNF que son útiles en métodos y composiciones de la presente invención. Las moléculas del receptor de TNF que se pueden usar en la invención son caracterizadas por su capacidad de tratar pacientes por periodos extendidos con buen a excelente alivio de síntomas y baja toxicidad. La baja inmunogenicidad y/o alta afinidad, así como otras propiedades no definidas, pueden contribuir a resultados terapéuticos alcanzados.

Moléculas multiméricas del receptor de TNF útiles en la presente invención comprenden toda o una porción funcional del ECD de dos o más receptores de TNF enlazados vía uno o más enlazadores de polipéptido u otros enlazadores de no péptido, tal como polietlenglicol (PEG). Las moléculas

multiméricas pueden además comprende un péptido de señal de una proteína secretada para dirigir la expresión de la molécula multimérica. Estas moléculas multiméricas y métodos para su producción se han descrito en la solicitud de E.U.A. No. 08/437,533 (registrada el 9 de mayo, 1995), el contenido de la cual se incorpora totalmente aquí para referencia.

Las moléculas de fusión del inmunoreceptor TNF útiles en los métodos y composiciones de la presente invención comprenden al menos una porción de una o más moléculas de inmunoglobulina y toda o una porción funcional de uno o más receptores de TNF. Estas moléculas de fusión del inmunoreceptor se pueden ensamblar como monómeros, o hetero- u homo-multímeros. Las moléculas de fusión del inmunoreceptor también pueden ser monovalentes o multivalentes. Un ejemplo de dicha molécula de fusión del inmunoreceptor TNF es el receptor de TNF/proteína de fusión de IgG. Las moléculas de fusión del inmunoreceptor TNF y métodos para su producción se han descrito en la técnica (Lesslauer et al., Eur. J. Immunol. 21:2883-2886 (1991); Ashkenazi et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:10535-10539 (1991); Peppel et al., J. Exp. Med. 174:1483-1489 (1991); Kolls et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91:215-219 (1994); Butler et al., Cytokine 6(6):616-623 (1994); Baker et al., Eur. J. Immunol. 24:2040-2048 (1994); Beutler et al., Patente de E.U.A. No. 5,447,851; y Solicitud de Patente de E.U.A. No. 08/442,133 (registrada el 16 de mayo, 1995), cada una de cuyas referencias son totalmente incorporadas aquí para referencia). Métodos para la producción de moléculas de fusión del inmunoreceptor también se pueden encontrar en

Capon et al., Patente de E.U.A. No. 5,116,964; Capon et al., Patente de E.U.A. No. 5,225,538; y Capon et al., Nature 337:525-531 (1989), cuyas referencias son totalmente incorporadas aquí para referencia.

Un equivalente funcional, derivado, fragmento o región de la molécula de receptor de TNF se refiere a la porción de la molécula de receptor de TNF, o la porción de la secuencia molecular de receptor de TNF que codifica la molécula de receptor de TNF, esta es de tamaño suficiente y las secuencias para funcionalmente parecerse a las moléculas de receptor TNF que se pueden usar en la presente invención (por ejemplo, unión de TNFα con alta afinidad y que posee baja inmunogenicidad). Un equivalente funcional de la molécula de receptor de TNF también incluye moléculas de receptor de TNF modificadas que se parecen funcionalmente a moléculas de receptor de TNF que se pueden usar en la presente invención (por ejemplo, unión de TNFα con alta afinidad y que posee baja inmunogenicidad). Por ejemplo, un equivalente funcional de la molécula de receptor de TNF puede contener un codón "Silencioso" o una o más sustituciones, supresiones o adiciones de aminoácido (por ejemplo, sustitución de un aminoácido por otro aminoácido ácido; o sustitución de un codón que codifica el mismo o diferente aminoácido hidrófobo por otro condón que codifica un aminoácido hidrófobo). Véase Ausubel *et al.*, *Current Protocols in Molecular Biology*, Greene Publishing Assoc. and Wiley-Interscience, New York (1987-2003).

Citocinas incluyen, pero no se limitan a todas las citocinas conocidas. Véase, por ejemplo, CopewithCytokines.com. Antagonistas de

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

Cualquier método de la presente invención puede comprender un método para tratar un trastorno mediador de proteína, que comprende la administración de una cantidad efectiva de una composición o composición farmacéutica que comprende al menos un mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o variante a una célula, tejido, órgano, animal o paciente en necesidad de dicha modulación, tratamiento o terapia. Dicho método puede además opcionalmente comprender la co-administración o terapia de combinación para tratar dichas enfermedades inmunes, en donde la administración de dicho al menos un mimeticuerpo de GLP-1, porción especificada o su variante, además comprende la administración antes concurrentemente, y/o después, de al menos una seleccionada de al menos una de otras citocinas tal como IL-3, -6 y -11; factor de célula madre; G-CSF y GM-CSF.

Usualmente el tratamiento de condiciones patológicas se afecta por la administración de una cantidad o dosificación efectiva de al menos una composición de mimeticuerpo de GLP-1 que total, en promedio, de un intervalo de al menos aproximadamente 0.0001 a 500 miligramos de al menos un mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o variante/kilogramo del paciente por dosis, y preferiblemente de al menos aproximadamente 0.001 a 100 miligramos de mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o

variante/kilogramo de paciente por administración sencilla o múltiple, dependiendo de la actividad específica de contenido en la composición. Alternativamente, la concentración de suero efectiva puede comprender 0.001-5000 μg/ml de concentración de suero por administración sencilla o múltiple. Dosificaciones adecuadas son conocidas para profesionales médicos y, desde luego, dependerán del estado de enfermedad particular, actividad especifica de la composición siendo administrada, y el paciente particular que experimenta el tratamiento. En algunos ejemplos, para alcanzar la cantidad terapéutica deseada, puede ser necesario proveer para administración repetida, es decir, administración individual repetida de una dosis monitoreada o medida particular, donde las administraciones individuales se repiten hasta que la dosis diaria deseada o efecto se alcance.

Las dosis preferidas pueden opcionalmente incluir 0.0001, 0.0002, 0.0003, 0.0004, 0.0005, 0.0006, 0.0007, 0.0008, 00009, 0.001, 0.002, 0.003, 0.004, 0.005, 0.006, 0.007, 0.008, 0.009, 0.01, 0.02, 0.03, 0.04, 0.05. 0.06, 0.07, 0.08, 0.09, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, y/o 30 mg/kg/administración, o cualquier intervalo, valor o fracción del mismo, o para alcanzar una concentración de suero de 0.0001, 0.0002, 0.0003, 0.0004, 0.0005, 0.0006, 0.0007, 0.0008, 00009, 0.001, 0.002, 0.003, 0.004, 0.005, 0.006, 0.007, 0.008, 0.009, 0.01, 0.02, 0.03, 0.04, 0.05. 0.06, 0.07, 0.08, 0.09, 0.1, 0.5, 0.9, 1.0, 1.1, 1.2, 1.5, 1.9, 2.0, 2.5, 2.9, 3.0, 3.5, 3.9, 4.0, 4.5, 4.9, 5.0, 5.5, 5.9, 6.0, 6.5, 6.9, 7.0, 7.5, 7.9, 8.0, 8.5, 8.9, 9.0, 9.5, 9.9,

10, 10.5, 10.9, 11, 11.5, 11.9, 20, 12.5, 12.9, 13.0, 13.5, 13.9, 14.0, 14.5, 4.9, 5.0, 5.5., 5.9, 6.0, 6.5, 6.9, 7.0, 7.5, 7.9, 8.0, 8.5, 8.9, 9.0, 9.5, 9.9, 10, 10.5, 10.9, 11, 11.5, 11.9, 12, 12.5, 12.9, 13.0, 13.5, 13.9, 14, 14.5, 15, 15.5, 15.9, 16, 16.5, 16.9, 17, 17.5, 17.9, 18, 18.5, 18.9, 19, 19.5, 19.9, 20, 20.5, 20.9, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 96, 100, 200, 300, 400, y/o 500 μg/ml de concentración de suero por administración sencilla o múltiple, o cualquier intervalo, valor o fracción del mismo.

De manera alternativa, la dosificación administrada puede variar dependiendo de factores conocidos, tal como características farmacodinámicas del agente particular, y su modo o ruta de administración; edad, salud, y peso del recipiente; naturaleza y extensión de los síntomas, grupo de tratamiento concurrente, frecuencia de tratamiento, y el efecto deseado. Usualmente una dosificación de ingrediente activo puede ser aproximadamente 0.0001 a 100 miligramos por kilogramo de peso del cuerpo. Ordinariamente 0.001 a 10, y preferiblemente 0.001 a 1 miligramos por kilogramo por administración o en forma de liberación sostenida es efectiva para obtener los resultados deseados.

Como un ejemplo no limitante, el tratamiento de humanos o animales se puede proveer como una dosificación de una vez o periódica de al menos un mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o variante de la presente invención 0.0001 a 100 mg/kg, tal como 0.0002, 0.0003, 0.0004, 0.0005, 0.0006, 0.0007, 0.0008, 00009, 0.001, 0.002, 0.003, 0.004, 0.005,

0.006, 0.007, 0.008, 0.009, 0.01, 0.02, 0.03, 0.04, 0.05. 0.06, 0.07, 0.08, 0.09, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.9, 1.0, 1.1, 1.5, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, o 10 mg/kg, por día, en al menos uno del día 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, o 40, o alternativamente, al menos uno de la semana 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 o 20, o cualquier combinación de los mismos, usando dosis sencillas, de infusión o repetidas.

Las formas de dosificación (composición) adecuadas para administración interna generalmente contienen de aproximadamente 0.0001 miligramos a aproximadamente 500 miligramos del ingrediente activo por unidad o contenedor. En estas composiciones farmacéuticas el ingrediente activo ordinariamente estará presente en una cantidad de aproximadamente 0.5-99.999% en peso basado en el peso total de la composición.

Para administración parenteral, el mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o variante se puede formular como una solución, emulsión o polvo liofilizado en asociación, o separadamente provisto, con un vehículo parenteral farmacéuticamente aceptable. Ejemplos de dichos vehículos son agua, solución salina, solución de Ringer, solución de dextrosa, y albúmina de suero humano al 5%. Liposomas y vehículos no acuosos tales como aceites fijados también se pueden usar. El vehículo o polvo liofilizado puede contener aditivos que mantienen la isotonicidad (por ejemplo, cloruro de sodio, manitol) y estabilidad química (por ejemplo, reguladores de pH y preservativos). La formulación se esteriliza por técnicas conocidas o

adecuada.

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

Administración terapéutica

Muchos modos conocidos y desarrollados se pueden usar para la administración de cantidades farmacéuticamente efectivas de al menos un mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o variante de acuerdo con la presente invención. Un mimeticuerpo de GLP-1 de la presente invención se puede suministrar en un portador, como una solución, emulsión, coloide, o suspensión, o como un polvo, usando cualquiera de una variedad de dispositivos y métodos adecuados para administración mediante inhalación u otros modos descritos aquí dentro o conocidos en la técnica.

Formulaciones parenterales y administración

Formulaciones para administración parenteral puede contener como excipientes comunes agua estéril o solución salina, polialquilenglicoles tales como polietilenglicol, aceites de origen vegetal, naftalenos hidrogenados y lo similar. Suspensiones acuosas o aceitosas para inyección se pueden preparar al usar un emulsionante o humidificador adecuado y un agente de suspensión, de acuerdo con métodos conocidos. Agentes para inyección pueden ser un agente de dilución administrable no oralmente, no tóxico tal

como solución acuosa o una solución inyectable estéril o suspensión en un solvente. Conforme el vehículo usable o solvente, agua, solución de Ringer, solución salina isotónica, etc. se deja; como un solvente ordinario, o solvente de suspensión, el aceite no volátil estéril se puede usar. Para estos propósitos, cualquier grupo de aceite no volátil y ácido graso se puede usar, incluyendo aceites grasos naturales, sintéticos o semisintéticos o ácidos grasos; mono-, di o tri-glicéridos naturales o sintéticos o semisintéticos. La administración parenteral es conocida en la técnica e incluye, pero no se limita a, medios convencionales de inyecciones, un dispositivo de inyección sin aguja presurizado con gas como se describe en la Patente de E.U.A. No 5,851,198 y un dispositivo perforador láser como se describe en la Patente de E.U.A. No 5,839,446 totalmente incorporada aquí para referencia.

Suministro alternativo

La invención además ser refiere a la administración de al menos un mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o variante por medios parenteral, subcutáneo, intramuscular, intravenoso, bolo, vaginal, rectal, bucal, sublingual, intranasal o transdérmico. La proteína, mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o composiciones de variante se pueden preparar para el uso para administración parenteral (subcutánea, intramuscular o intravenosa) particularmente en la forma de soluciones o suspensiones líquidas; para uso en administración vaginal o rectal particularmente en formas semisólidas tal como cremas y supositorios; para administración bucal o sublingual

particularmente en la forma de tabletas o cápsulas; o de manera intranasal particularmente en la forma de polvos, gotas nasales, o aerosoles o ciertos agentes; o particularmente de manera tansdérmica en la forma de gel, ungüento, loción, suspensión o sistema de suministro de parche con intensificadores químicos tal como sulfóxido de dimetilo para modificar la estructura de la piel o incrementar la concentración de fármaco en el parche tansdérmico (Junginger, et al. en "Drug Permeation Enhancement"; Hsieh, D. S., Eds., pp. 59-90 (Marcel Dekker, Inc. New York 1994, totalmente incorporada aquí para referencia), o con agentes de oxidación que permiten la aplicación de formulaciones que contienen proteínas y péptidos en la piel (WO 98/53847), o aplicaciones de campos eléctricos para crear trayectorias de transporte transitorias tal como electroporación, o para incrementar la movilidad de fármacos de carga a través de la piel tal como iontoforesis, o aplicación de ultrasonido tal como sonoforesis (Patentes de E.U.A. Nos. 4,309,989 y 4,767,402) (las publicaciones y patentes anteriores siendo enteramente incorporadas aquí por referencia).

Administración pulmonar/nasal

Para administración pulmonar, preferiblemente al menos un mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o composición de variante se suministra en un tamaño de partícula efectivo para alcanzar las vías respiratorias inferiores del pulmón o senos. De acuerdo con al invención, al menos un mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o variante se puede

suministrar por cualquier variedad de inhalación o dispositivos nasales conocidos en la técnica para administración de un agente terapéutico mediante inhalación. Estos dispositivos capaces de dGLP-1sitación de formulaciones aerolizadas en la cavidad del seno o alveolo de un paciente incluyen inhaladores de dosis medidas, nebulizadores, generadores de polvo seco, rociadores y lo similar. Otros dispositivos adecuados para dirigir la administración pulmonar o nasal de mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o variantes también conocidos en la técnica. Todos los dispositivos pueden usar formulaciones adecuadas para la administración para la dispersión de mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o variante en un aerosol. Dichos aerosoles pueden comprender soluciones (acuosas y no acuosas) o partículas sólidas. Inhaladores de dosis medidas tipo el inhalador de dosis medida Ventolin®, usualmente el uso de un gas propelente y requiere la activación durante la aspiración (Véase, por ejemplo, WO 94/16970, WO 98/35888). Inhaladores de polvo seco tipo inhalador Turbuhaler™ (Astra), Rotahaler® (Glaxo), Diskus® (Glaxo), Spiros™ (Dura), dispositivos marcados por Inhale Therapeutics, y el inhalador de polvo Spinhaler® (Fisons), el uso de activación de exhalación de un polvo mezclado (US 4668218 Astra, EP 237507 Astra, WO 97/25086 Glaxo, WO 94/08552 Dura, US 5458135 Inhale, WO 94/06498 Fisons, totalmente incorporadas aquí para referencia). Nebulizadores tipo nebulizador AERx™ Aradigm, Ultravent® (Mallinckrodt), y el nebulizador Acorn II® (Marquest Medical Products) (US 5404871 Aradigm, WO 97/22376), las referencias anteriores totalmente

incorporadas aquí para referencia, producen aerosoles a partir de soluciones, mientras los inhaladores de dosis medida, inhaladores de polvo seco, etc. generan aerosoles de partícula pequeña. Estos ejemplos específicos de dispositivos de inhalación disponibles comercialmente se destinan a ser un representativo de dispositivos específicos adecuados para la práctica de esta invención, y no tienen la intención de limitar el alcance de la invención. Preferiblemente, una composición que comprende al menos un mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o variante se suministra por un inhalador o rociador de polvo seco. Existen varios aspectos deseables de un dispositivo de inhalación para administrar al menos un mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o variante de la presente invención. Por ejemplo, el suministro por dispositivo de inhalación es ventajosamente confiable, reproducible y exacto. El dispositivo de inhalación puede opcionalmente suministrar partículas secas pequeñas, por ejemplo menos de aproximadamente 10 μm, preferiblemente aproximadamente 1-5 μm, para buena respirabilidad.

Administración de mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o composición variante como un rociador

Un rociador que incluye mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o proteína de composición de variante se puede producir al forzar una suspensión o solución de al menos un mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o variante a través de una boquilla bajo presión. El tamaño de boquilla y configuración, la presión aplicada, y la proporción de

alimentación de líquido se puede elegir para alcanzar la salida y tamaño de partícula deseados. Un electrorociador se puede producir, por ejemplo, por un campo eléctrico en conexión con una alimentación capilar o de boquilla. Ventajosamente, partículas de al menos un mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o proteína de composición de variante suministrados por un rociador tienen un tamaño de partícula de menos de aproximadamente 10 μm, preferiblemente en el intervalo de aproximadamente 1 μm a aproximadamente 5 μm, y más preferiblemente de aproximadamente 2 μm a aproximadamente 3 μm.

Formulaciones de al menos un mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o proteína de composición de variante adecuadas para el uso con un rociador usualmente incluyen mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o proteína de composición de variante en una solución acuosa a una concentración de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 20 mg de al menos un mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o proteína de composición variante por ml de solución. La formulación puede incluir agentes tal como un excipiente, un regulador de pH, un agente de isotonicidad, un preservativo, un agente tensioactivo, y, preferiblemente zinc. La formulación también puede incluir un excipiente o agente para la estabilización del mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o proteína de composición de variante, tal como un regulador de pH un agente de reducción, una proteína de carga, o un carbohidrato. Proteínas de carga útiles en la formulación de mimeticuerpo de GLP-1 o porción específica o proteínas de composición de

variante incluyen albúmina, protamina, o lo similar. Carbohidratos usuales útiles en la formulación de mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o proteínas de composición de variante incluyen, sucrosa, manitol, lactosa, trehalosa, glucosa, o lo similar. El mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o formulación de proteína de composición de variante también pueden incluir un agente tensioactivo, que puede reducir o prevenir la agregación inducida por superficie del mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o proteína de composición de variante causada por atomización de la solución en la formación de un aerosol. Varios agentes tensioactivos convencionales se pueden emplear, tal como ésteres y alcoholes del ácido graso de polioxietileno, y ésteres del ácido graso de polioxietilen sorbitol. Cantidades generalmente variarán entre 0.001 y 14% en peso de la formulación. Agentes tensioactivos preferidos especialmente para propósitos de esta invención son monooleato de polioxietilen sorbitan, polisorbato 80, polisorbato 20, o lo similar. Agentes adicionales conocidos en la técnica para formulación de una proteína tal como mimeticuerpos, o porciones especificadas o variantes, también se pueden incluir en la formulación.

Administración de mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o composiciones de variante por un nebulizador

Un mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o proteína de composición de variante se puede administrar por un nebulizador, tal como un nebulizador de chorro o un nebulizador ultrasónico. Usualmente un

nebulizador de chorro, una fuente de aire comprimido se usa para crear un chorro de aire de alta velocidad a través del un orificio. Conforme el gas se expande hacia la boquilla, una región de baja presión se crea, la cual extrae una solución de mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o proteína de composición de variante a través de un tubo capilar conectado a un reservorio líquido. La corriente líquida del tubo capilar es cizallada en filamentos inestables y gotea conforme sale del tubo, creando el aerosol. Un intervalo de configuraciones, velocidades de flujo, y tipos de desviadores se pueden emplear para alcanzar las características de desempeño deseadas de un nebulizador de chorro dado. En un nebulizador ultrasónico, la energía eléctrica de alta frecuencia se usa para crear energía mecánica vibracional, usualmente empleando un transductor piezoeléctrico. Esta energía se transmite a la formulación de mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o proteína de composición de variante ya sea directamente o a través de un fluido de acoplamiento, creando un aerosol que incluye el mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o proteína de composición variante. Ventajosamente, las partículas de mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o proteína de composición variante suministrada por un nebulizador tiene un tamaño de partícula menor de aproximadamente 10 μm, preferiblemente en el intervalo de aproximadamente 1 μm a aproximadamente 5 μm, y más preferiblemente aproximadamente 2 μm a aproximadamente 3 μm.

Formulaciones de al menos un mimeticuerpo de GLP-1 o porción

especificada o variante adecuadas para el uso con un nebulizador, ya sea a chorro o ultrasónico, usualmente incluyen el mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o proteína de composición de variante en una solución acuosa a una concentración de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 20 mg de al menos un mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o proteína de variante por ml de solución. La formulación puede incluir agentes tal como un excipiente, un regulador de pH, un agente de isotonicidad, un preservativo, un agente tensioactivo, y preferiblemente zinc. La formulación también puede incluir un excipiente o agente para la estabilización de al menos un mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o proteína de composición de variante, tal como un regulador de pH, un agente de reducción, una proteína de carga, o un carbohidrato. Las proteínas de carga útiles en la formulación de al menos un mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o proteínas de composición variante incluyen albúmina, protamina, o lo similar. Carbohidratos usuales útiles en la formulación de al menos un mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o variante incluyen sucrosa, manitol, lactosa, trehalosa, glucosa, o lo similar. El al menos un mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o formulación de variante también puede incluir un agente tensioactivo, que puede reducir o prevenir la agregación inducida por superficie de al menos un mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o variante causada por la atomización de la solución en la formación de un aerosol. Varios agentes tensioactivos convencionales se pueden emplear, tal como ésteres y alcoholes del ácido graso polioxietileno, y ésteres del ácido

graso polioxietilen sorbital. Cantidades generalmente variarán entre 0.001 y 4% en peso de la formulación. Agentes tensioactivos especialmente preferidos para propósitos de esta invención son monooleato de polioxietilen sorbitan, polisorbato 80, polisorbato 20, o lo similar. Agentes adicionales conocidos en la técnica para la formulación de una proteína tal como al menos un mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o proteína de variante también se pueden incluir en la formulación.

Administración de mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o composiciones de variante por un inhalador de dosis medida

En un inhalador de dosis medida (MDI), un propelente, al menos un mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o variante, y cualquiera de los excipientes u otros aditivos están contenidos en un bote como una mezcla incluyendo un gas comprimido licuado. La activación de la válvula medidora libera la mezcla como un aerosol, preferiblemente conteniendo partículas en el intervalo de tamaño de menos de aproximadamente 10 μm, preferiblemente aproximadamente 1 μm a aproximadamente 5 μm, y más preferiblemente aproximadamente 2 μm a aproximadamente 3 μm. El tamaño de partícula en aerosol deseado puede ser obtenido al emplear una formulación de mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o proteína de composición de variante producida por varios métodos conocidos por aquellos de experiencia en la técnica, incluyendo molido de chorro, secado de rociado, condensación de punto crítico o lo similar. Inhaladores de dosis medida preferidos incluyen

aquellos fabricados por 3M o Glaxo y empleando un propelente de hidrofluorocarbono.

Formulaciones de al menos un mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o variante para el uso con un dispositivo inhalador de dosis medida generalmente incluirán un polvo finamente dividido que contiene al menos un mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o variante como una suspensión en un medio no acuoso, por ejemplo, suspendido en un propelente con la ayuda de un agente tensioactivo. El propelente puede ser cualquier material convencional empleado para este propósito, tal como clorofluorocarbono, un hidroclorofluorocarbono, un hidrofluorocarbono, o un hidrocarburo, incluyendo triclorofluorometano, diclorodifluorometano, diclorotetrafluoroetanol y 1,1,1,2-tetrafluoroetano, HFA-134a (hidrofluoroalcano-134a), HFA-227 (hidrofluoroalcano-227), o lo similar. Preferiblemente el propulsor es un hidrofluorocarbono. El agente tensioactivo se puede elegir para estabilizar al menos un mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o variante como una suspensión en el propelente, para proteger el agente activo contra degradación química, y lo similar. Los agentes tensioactivos incluyen tioleato de sorbitan, lecitina de soya, ácido oleico, o lo similar. En algunos casos los aerosoles de solución son preferidos usando solventes tal como etanol. Agentes adicionales conocidos en la técnica para la formulación de una proteína tal como proteína también se pueden incluir en la formulación.

Una persona con experiencia ordinaria en la técnica reconocerá

que los métodos de la invención actual se pueden realizar mediante administración pulmonar de al menos un mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o composiciones variantes vía dispositivos no descritos aquí.

Formulaciones mucosales y administración

Para absorción a través de superficies mucosales, composiciones y métodos de administración de al menos un mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o variante incluyen una emulsión que comprende una pluralidad de partículas de submicra, una macromolécula mucoadhesiva, un péptido bioactivo, y una fase continua acuosa, que promueve la absorción a través de superficies mucosales al realizar la mucoadhesión de las partículas de emulsión (Patentes de E.U.A. Nos 5,514,670). Superficies mucosas adecuadas para la aplicación de las emulsiones de la presente invención pueden incluir rutas de administración corneal, conjuntival, bucal, sublingual, nasal, vaginal, pulmonar, estomacal, intestinal, y rectal. Formulaciones para administración vaginal o rectal, por ejemplo, supositorios, pueden contener excipientes, por ejemplo, polialquilenglicoles, vaselina, mantequilla de cacao, y lo similar. Formulaciones para administración intranasal pueden ser un sólido y contener como excipientes, por ejemplo, lactosa o pueden ser soluciones acuosas o aceitosas de gotas nasales. Para excipientes de administración bucal incluyen azúcares, estearato de calcio, estearato de magnesio, almidón pregelatinizado, y lo similar (Patentes de E.U.A. Nos. 5,849,695).

Formulaciones orales y administración

Formulaciones para administración oral dependen de la co-administración de adyuvantes (por ejemplo, resorcinoles y agentes tensioactivos no iónicos tal como polioxietileno oleilo éter y n-hexadecilpolietilen éter) para incrementar artificialmente la permeabilidad de las paredes intestinales, así como la co-administración de inhibidores enzimáticos (por ejemplo, inhibidores de tripsina pancreática, diisopropilfluorofosfato (DFF) y trasilol) para inhibir la degradación enzimática. El compuesto constituyente activo de la forma de dosificación tipo sólida para administración oral se puede mezclar con al menos un aditivo, incluyendo sucrosa, lactosa, celulosa, manitol, trehalosa, rafinosa, maltitol, dextrano, almidones, agar, arginatos, quitinas, quitosanos, pectinas, goma de tragacanto, goma arábiga, gelatina, colágeno, caseína, albúmina, polímero sintético o semisintético, y glicérido. Estas formas de dosificación también pueden contener otro(s) tipo(s) de aditivos, por ejemplo, agente de dilución inactivo, lubricante tal como estearato de magnesio, paraben, agente de preservación tal como ácido sórbico, ácido ascórbico, alfa-tocoferol, antioxidante tales como cisteína, desintegrador, aglutinante, espesante, agente regulador de pH, agente edulcorante, agente endulzante, agente de perfume, etc.

Las tabletas y píldoras se pueden procesar adicionalmente en preparaciones entéricas-recubiertas. Las preparaciones líquidas para la administración oral incluyen preparaciones de emulsión, jarabe, elíxir,

suspensión y solución permisibles para uso médico. Estas preparaciones pueden contener agentes de dilución inactivos usados ordinariamente en dicho campo, por ejemplo, agua. Liposomas también se han descrito como sistemas de suministro de fármaco para insulina y heparina (Patente de E.U.A. No. 4,239,754). Más recientemente, microesferas de polímeros artificiales de aminoácidos mezclados (proteinoides) se han usado para suministrar farmacéuticos (Patente de E.U.A. No. 4,925,673). Además, compuestos portadores descritos en la Patente de E.U.A. 5,879,681 y Patente de E.U.A. No. 5,871,753 se usan para suministrar agentes biológicamente activos oralmente conocidos en la técnica.

Formulaciones transdérmicas y administración

Para la administración transdérmica, el al menos un mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o variante se encapsula en un dispositivo de suministro tal como liposoma o nanopartículas poliméricas, micropartículas, microcápsula o microesferas (referidas colectivamente como micropartículas a menos que se establezca lo contrario). Un número de dispositivos adecuados se conocen, incluyendo micropartículas elaboradas de polímeros síntéticos tales como ácidos polihidroxi tales como ácido poliláctico, ácido poliglicólico y sus co-polímeros, poliortoésteres, polianhídridos, y polifosfazenos, y polímeros naturales tales como colágeno, ácidos poliamino, albúmina y otras proteínas, alginato y otros polisacáridos, y sus combinaciones (Patente de E.U.A. Nos. 5,814,599).

157

Administración prolongada y formulaciones

A veces puede ser deseable suministrar los compuestos de la presente invención al sujeto sobre periodos prolongados de tiempo, por ejemplo, por periodos de una semana a un año de una administración sencilla. Varias formas de liberación lenta, dGLP-1t o dosificación de implante se pueden utilizar. Por ejemplo, una forma de dosificación puede contener una sal farmacéuticamente aceptable no tóxica de los compuestos que tienen un grado bajo de solubilidad en fluidos corporales, por ejemplo (a) una sal de adición de ácido con un ácido polibásico tal como ácido fosfórico, ácido sulfúrico, ácido cítrico, ácido tartárico, ácido tánico, ácido pamoico, ácido algínico, ácido poliglutámico, ácidos nafataleno mono- o di-sulfónicos, ácido poligalacturónico, y lo similar; (b) una sal con un catión de metal polivalente tal como zinc, calcio, bismuto, bario, magnesio, aluminio, cobre, cobalto, níquel, cadmio y lo similar, o con un catión orgánico formado de, por ejemplo, N,N'-dibencil-etilidenodiamina o etilenodiamina; o (c) combinaciones de (a) y (b) por ejemplo, una sal tanato de zinc. Adicionalmente, los compuestos de la presente invención o, preferiblemente, una sal insoluble relativamente tal como aquellos descritos, se pueden formular en un gel, por ejemplo, un gel de monoestearato de aluminio con, por ejemplo, aceite de ajonjolí, adecuado para inyección. Particularmente sales preferidas son sales de zinc tanato, sales de pamoato y lo similar. Otro tipo de formulación dGLP-1t de liberación lenta para inyección puede contener el compuesto o sal dispersada para encapsulación en un polímero no antigénico, no tóxico, de degradación lenta

tal como el polímero ácido poliláctico/ácido poliglicólico, por ejemplo como se describe en la Patente de E.U.A. No. 3,773,919. Los compuestos o, preferiblemente sales insolubles relativamente tales como aquellas descritas anteriormente también se pueden formular en pellas silásticas de matriz de colesterol, particularmente para uso en animales. Liberación lenta adicional, dGLP-1t o formulaciones de implante, por ejemplo, gas o liposomas líquidos se conocen en la literatura (Patente de E.U.A. Nos. 5,770,222 y "Sustained and controlled Release Drug Delivery Siystems", J.R Robinson ed., Marcel Dekker, Inc., N.Y., 1978).

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

EJEMPLO 1

Clonación y expresión de un mimeticuerpo de GLP-1 en células mamíferas

Un vector de expresión de mamífero típico contiene al menos un elemento promotor, que media la iniciación de transcripción de ARNm, el mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o variante que codifica secuencia, y señales requeridas para la terminación de transcripción y poliadenilación del transcripto. Elementos adicionales incluyen incrementadotes, secuencias Kozak y secuencias de intervención flanqueadas

por el donador y sitios aceptores para el empalme de ARN. Transcripción altamente eficiente se puede lograr con promotores tempranos y tardíos de SV40, las repeticiones terminales largas (LTRS) de Retrovirus, por ejemplo, RSV, HTLVI, HIVI y el promotor temprano del citomegalovirus (CMV). Sin embargo, elementos celulares también se pueden usar (por ejemplo, el promotor de actina de humano). Los vectores de expresión adecuados para usarse en la práctica de la presente invención incluyen, por ejemplo, vectores tales como pIRES1neo, pRetro-Off, pRetro-On, PLXSN, o pLNCX (Clonetech Labs, Palo Alto, CA), pcADN3.1 (+/-), pcADN/Zeo (+/-) o pcADN3.1/Hygro (+/-) (Invitrogen), PSVL y PMSG (Pharmacia, Uppsala, Suecia), pRSVcat (ATCC 37152), pSV2dhfr (ATCC 37146) y pBC12MI (ATCC 67109). Las células hospederas de mamífero que pueden usarse incluyen células de humano Hela 293, H9 y Jurkat, células de ratón NIH3T3 y C127, Cos 1, Cos 7 y CV 1, quail QC1-3, células de ratón L, y células de ovario de hámster chino (CHO).

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

El gen transfectado también se puede amplificar para expresar cantidades grandes del mimeticuerpo de GLP-1 codificado o porción especificada o variante. El marcador DHFR (dihidrofolato reductasa) es útil para desarrollar líneas celulares que tienen varios cientos o varios miles de copias del gen de interés. Otro marcador de selección útil es la enzima

glutamina sintasa (GS) (Murphy, et al, Biochem. J. 227:277-279 (1991); Bebbington, et al., Bio/Technology 10:169-175 (1992)). Usando estos marcadores, las células de mamífero se desarrollan en medio selectivo y las células con la resistencia más alta se seleccionan. Estas líneas celulares contienen el o los genes amplificados integrados en un cromosoma. Las células de ovario de hámster chino (CHO) y NSO a veces se usan para la producción de mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o variantes.

Los vectores de expresión pC1 y pC4 contienen el promotor fuerte (LTR) del virus de sarcoma de Rous (Cullen, et al., Molec. cell. Biol. 5:438-447 (1985)) más un fragmento del intensificador CMV (Boshart, et al., Cell 41:521-530 (1985)). Sitios de clonación múltiples, por ejemplo, con los sitios de escisión enzimática de restricción BanHI, Xbai y Asp718, facilitan la clonación del gen de interés. Los vectores contienen además del 3' intrón, la señal de poliadenilación y terminación del gen de peproinsulina de rata.

Clonación y expresión en células CHO

El vector pC4 se usa para la expresión de mimeticuerpo de GLP-1 o porción especificada o variante. PLásmido pC4 es un derivado del plásmido pSV2-dhfr (No. de acceso ATCC 37146). El plásmido contiene el gen DHFR de ratón bajo control del promotor inicial SV40. Las células de ovario de hámster chino u otras que carecen de actividad de dihidrofolato que se transfectan con estos plásmidos se puede seleccionar mediante el crecimiento de las células en un medio selectivo (por ejemplo, alfa menos

MEM, Life Technologies, gaithersburg, MD) complementado con el metotrexato de agente quimioterapéutico. La amplificación de los genes DHFR en células resistentes a metotrexato (MTX) se ha documentado bien (ver, por ejemplo, F. W. Atl, et al., J. Biol. Chem. 253:1357-1370 (1978; J. L. Hamlin y C. Ma, Biochem. et Biophys. Acta 1097:107-143 (1990); y M. J. Page y M. A. Sydenham, Biotechnology 9:64-68 (1991)). Las células crecen en concentraciones incrementadas de MTX y desarrollan resistencia al fármaco mediante sobre-producción de la enzima objetivo, DHFR, como un resultado de amplificación del gen DHFR. Si un segundo gen se enlaza al gen DHFR, es usualmente se co-amplifica y sobre-expresa. Se sabe en la técnica que este método se puede usar para desarrollar líneas celulares que tienen más de 1000 copias del o los genes amplificados. Posteriormente, cuando se retira el metotrexato, las líneas celulares se obtienen conteniendo el gen amplificado integrado en uno o más cromosomas de la célula hospedera.

El plásmido pC4 contiene para expresar el gen de interés el promotor fuerte de la repetición terminal larga (LTR) del virus de sarcoma de Rous (Cullen, et al., Molec. cell. Biol. 5:438-447 (1985)) más un fragmento aislado del intensificador del gen temprano inmediato de citomegalovirus humano (CMV) (Boshart, et al., Cell 41:521-530 (1985)). Corriente abajo del promotor son sitios de escisión de enzima de restricción BamHI, Xbal y Asp718 que permiten la integración de los genes. Detrás de los sitios de clonación el plásmido contiene el 3' intrón y el sitio de poliadenilación del gen de preproinsulina de rata. Otros promotores de eficiencia alta también se

pueden usar para la expresión, por ejemplo, el promotor b-actina de humano, los promotores tempranos o tardíos SV40 o las repeticiones terminales largas de otros retrovirus, por ejemplo, HIV y HTLVI. Los sistemas de expresión génica Clontech's Tet-Off y Tet-On y sistemas similares se pueden usar para expresar el GLP-1 de una manera regulada en células de mamífero (M. Gossen, y H. Bujard, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:5547-5551 (1992)). Para la poliadenilación del ARNm otras señales, por ejemplo, de la hormona de crecimiento humana o genes de globina se pueden usar también. Líneas celulares estables tienen un gen de interés integrado en los cromosomas también se pueden seleccionar en la co-transfección con un marcador seleccionable como gpt, G418 o higromicina. Es conveniente usar más de un marcador seleccionable en el inicio, por ejemplo, G418 más metotrexato.

El plásmido pC4 se digiere con enzimas de restricción y entonces se defosforila usando fosfatasa intestinal de ternero mediante procedimientos conocidos en la técnica. El vector entonces se aísla de un gel de agarosa 1%.

La secuencia de ADN que codifica el mimeticuerpo de GLP-1 completo o porción especificada o variante se usa, correspondiente a regiones variables de HC y LC de un mimeticuerpo de GLP-1 de la presente invención, de acuerdo a etapas de método conocidas. Ácido nucleico aislado que codifica una región constante humana adecuada (es decir, región HC y LC) también se usa en este constructo.

La región variable y constante aislada que codifica ADN y el

vector defosforilado entonces se ligan con ADN T4 ligasa. E. coli HB101 o células XL-1 Blue entonces se transforman y bacterias se identifican conteniendo el fragmento insertado en el plásmido pC4 usando, por ejemplo, análisis de enzima de restricción.

Las células de ovario de hámster chino (CHO) que carecen de un gen DHFR activo se usan para transfección. 5 μg del plásmido de expresión pC4 se co-transfecta con 0.5 μg del plásmido pSV2-neo usando lipofectina. El plásmido pSV2neo contiene un marcador seleccionable dominante, el gen neo de Tn5 que codifica una enzima que confiere resistencia a un grupo de antibióticos incluyendo G418. Las células se siembran en alfa menos MEM complementado con 1 μg/ml de G418. Después de 2 días, las células se tripsinan y siembran en placas de clonación de hibridoma (Greiner, Alemania) en alfa menos MEM complementado con 10, 25, o 50 ng/ml de metotrexato más 1 μg/ml de G418. Después de aproximadamente 10-14 días clones sencillos son tripnizados y después se siembran en platos de petri de 6 pozos o matraces de 10 ml usando diferentes concentraciones de metotrexato (50 nM, 100 nM, 200 nM, 400 nM, 800 nM). Clones que crecen en concentraciones más altas de metotrexato entonces se transfieren a nuevas placas de 6 pozos que contienen concentraciones aún más altas de metotrexato (1 mM, 2 mM, 5 mM, 10 mM, 20 mM). El mismo procedimiento se repite hasta que los clones se obtengan y crezcan a una concentración de 100-200 mM. La expresión del producto génico deseado se analiza, por ejemplo, por medio de SDS-PAGE y Western blot o por medio de

análisis de HPLC de fase inversa.

EJEMPLO 2

Ejemplo no limitante de un mimeticuerpo de GLP-1 de la invención

GLP-1 es un péptido de 37-aminoácidos secretado de las células L del intestino después de un desafío de glucosa oral. Un constructo de mimeticuerpo que incorpora un péptido de GLP-1 activo biológicamente (7-37), variante o derivado se espera prolongue el tiempo de vida *in vivo* del péptido y proporcione una terapia novedosa para la disminución de glucosa en sangre en pacientes con diabetes tipo 2. Los péptidos que codifican péptido GLP-1 nativo (7-37) o un análogo resistente a DPP-IV se pueden incorporar en el andamio de mimeticuerpo. Varias de estas moléculas se han elaborado, y los mimeticuerpos resultantes han demostrado actividad en ensayos basados en células funcionales *in vitro*. Se puede observar que diferentes ensayos *in vitro* y modelos *in vivo* se pueden usar en estos estudios y las potencias no pueden ser comparables entre sí o a resultados presentados aquí.

Para generar variantes de mimeticuerpo de GLP-1, el péptido de GLP-1, el enlazador, la bisagra, o las secuencias CH2 y CH3 en el mimeticuerpo se puede suprimir, agregar, sustituir, mutar o modificar para mejorar las funciones de expresión, de potencia, de estabilidad o efectoras.

La secuencia de GLP-1 tipo salvaje (MMB GLP-1 de SEQ ID NO

4a), así como variantes de GLP-1 resistentes a DPP-IV, tales como MMB GLP-1 de SEQ ID NO 4c (A2S) o MMB GLP-1 de SEQ ID NO 4b (A2G) se pueden incorporar en un andamio de mimeticuerpo. Las mutaciones del péptido se pueden hacer para mejorar las propiedades de un mimeticuerpo de GLP-1. Por ejemplo las mutaciones en los residuos terminales amino pueden mejorar la señalización mientras las mutaciones en el dominio helicoidal pueden estabilizar la hélice y mejoran por lo tanto la unión al receptor y/o estabilidad del mimeticuerpo.

La longitud y composición del enlazador se pueden mutar para variar la flexibilidad o estabilidad de la unión entre el péptido de GLP-1 y la región Fc. Diferentes isotipos se pueden incorporar en la región de bisagra de la molécula. Adicionalmente, mutaciones se pueden hacer dentro de la región de bisagra del mimeticuerpo para estabilizar la molécula. Por ejemplo, la bisagra IgG4 de humano se puede mutar para hacer el Ser^{228} -> Pro variante, para estabilizar los enlaces intercadena disulfuro en el mimeticuerpo. Variaciones dentro de la porción Fc del mimeticuerpo se pueden hacer para mejorar la estabilidad de la molécula y cambiar las funciones efectoras tales como unión a FcR. Por ejemplo, uno puede usar isotipos humanos o murina (o variaciones de estas moléculas) tales como IgG4 con mutaciones Ala/Ala.

Mimeticuerpo de GLP-1 de la presente invención

Un ejemplo específico, no limitante, de esta invención es el constructo de mimeticuerpo de GLP-1 (SEQ ID NO: 2) de acuerdo a la fórmula

(I):

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

donde P es una copia sencilla del péptido GLP-1 bioactivo (7-36), L es una repetición tandem de enlazador flexible Gly-Ser o Gly-Gly-Ser, V es la C-terminal de la secuencia V_H, es decir, la región J de una IgG de origen natural, H es la región de bisagra IgG4 completa y CH2 & CH3 son de la subclase de isotipo IgG4. Se espera que la vida media de este constructo será muchas veces aquella del péptido de GLP-1 solo o su variante o derivado y similar a aquella de un IgG.

Además de la estructura básica descrita anteriormente, variantes con características biológicas potencialmente favorables se describen. Estas incluyen constructos que pueden tener una tendencia disminuida de auto-asociarse, las funciones efectoras inmunes reducidas o inmunogenicidad disminuida. Otras modificaciones que confieren características deseadas tales como conformación mejorada del péptido activo biológicamente, y transfieren a través de la barrera sangre-cerebro se contemplan. Las variantes propuestas y modificaciones se pueden combinar de una manera para producir constructos con actividades deseadas.

Usando métodos de ADN recombinante, el péptido de GLP-1 se inserta en un vector intermedio entre un péptido de señal de inmunoglobulina y una secuencia J de humano. Esto se realiza usando oligonucleótidos sintéticos complementarios con extremos compatibles con los sitios de restricción presentes en el vector. Estos oligonucleótidos comprenden

secuencias de codificación para el péptido de GLP-1, y un enlazador flexible compuesto de dos repeticiones GGGS. Un fragmento de restricción que contiene los elementos funcionales anteriormente mencionados entonces se transfieren en un vector de expresión. Este vector contiene el promotor de inmunoglobulina anti-CD4 e intensificador, y la secuencia de codificación para la secuencia de bisagra IgG4 de humano, región constante HC 2(CH2) y región constante 3 (CH3) así como los elementos necesarios para la replicación de plásmido y selección en bacterias y selección para agentes de expresión estables en células mamíferas.

Este plásmido se introduce en células HEK293E y expresión del MMB GLP-1 wt se logra en células transfectadas transitoriamente. La purificación de MMB GLP-1 se realiza mediante cromatografía de afinidad 12 superosa y proteína A estándar, produciendo aproximadamente 1.5 mg/l de células transfectadas. Esta proteína es el material de inicio para los experimentos descritos anteriormente.

La secuencia de aminoácidos de un mimeticuerpo de GLP-1 se muestra en la figura 1. Dominios funcionales se anotaron anteriormente la secuencia de codificación de péptido. Se piensa que la secuencia J proporcionará aún más flexibilidad para permitir que el segmento GLP-1 asuma la conformación apropiada y permitir que los péptidos sobresalgan de la estructura globular de la inmunoglobulina que permite la orientación adecuada para la unión al receptor de GLP-1. Regiones CH2 y CH3 constituyen el volumen de la proteína. Una de las razones por las que se

piensa que las inmunoglobulinas tienen una vida media de suero larga es su capacidad de unir el FcRn que extiende la vida media del suero al retornar de vuelta la inmunoglobulina pinocitosada al espacio extracelular. El sitio de unión del FcRn sobrepone la unión de las regiones CH2 y CH3 (Sheilds et al, 2001, J. Biol. Chem., vol 276 (9), 6591-6604).

Es bien sabido que dos cadenas pesadas IgG se ensamblan durante el procesamiento celular vía enlaces disulfuro entre las cisteínas localizadas en la región de bisagra para formar un homodímero. Se espera que esto también ocurra entre los péptidos modificados para formar el constructo de mimeticuerpo de GLP-1 ensamblado. La estructura esperada de un mimeticuerpo de GLP-1 contiene dos péptidos de GLP-1.

Experimentos similares se repiten para la MMB GLP-1 de SEQ ID NO: 4 y resultados similares se obtienen.

EJEMPLO 3

Ensayo de unión FACS

La actividad de un mimeticuerpo de GLP-1 se analiza en un ensayo de unión FACS *in vitro*. Para determinar si MMB GLP-1 une el GLP-1R, células HEK293 ($1x10^6$ células) sobre-expresa el GLP-1R se incuban con MMB GLP-1 de SEQ ID NO 4a (20 nM) durante 2 horas a 4°C. Las células se lavan, y un anticuerpo de detección secundario marcado de manera fluorescente (1 µg/ml de IgG anti-humano de cabra, Fc gamma específico) se

añade durante 30 minutos a 4°C. La intensidad de fluorescencia de las células se monitorea vía citometría de flujo. La figura 2A muestra que MMB GLP-1 de SEQ ID NO 4a de unión a células HEK293 sobre-expresa el GLP-1R (gris, MMB GLP-1 de SEQ ID NO 4a pero no secundario; negro, únicamente secundario; rojo, control negativo MMB y secundario; azul, MMB GLP-1 y secundario). La figura 2B muestra que el MMB GLP-1 de SEQ ID NO 4a no se une a las células control HEK293 (gris, MMB GLP-1 de SEQ ID NO 4a pero no secundario; negro, únicamente secundario; azul, MMB GLP-1 de SEQ ID NO 4a y secundario). La figura 2C muestra que un análogo de péptido de GLP-1 (A2S) es capaz de competir con MMB GLP-1 de SEQ ID NO 4a para unión a células de HEK293 sobre-expresa el GLP-1R (gris, MMB GLP-1 de SEQ ID NO 4a pero no secundario; negro, MMB GLP-1 de SEQ ID NO 4a y secundario; naranja, MMB GLP-1 de SEQ ID NO 4a, competidor 0.2 nM, secundario; azul, MMB GLP-1 de SEQ ID NO 4a, competidor 20 nM, secundario; rojo, MMB GLP-1 de SEQ ID NO 4a, competidor 100 nM, secundario).

Experimentos similares se repiten para el MMB GLP-1 de SEQ ID NO 4 y resultados similares se obtienen.

EJEMPLO 4

Ensayo AMPc

GLP-1 se une a su receptor, un receptor acoplado a proteína G,

resultando en un incremento dependiente de la dosis en la molécula de señalización, AMP 3',5'-cíclico (AMPc). AMPc se puede medir con un ensayo *in vitro* en células que expresan el GLP-1R (Applied Biosystems). Brevemente, células Rinm (células 100,000) se incuban con concentraciones incrementadas de péptido de GLP-1 (0-30 nM) o MMB GLP-1 A (0-100 nM). Las células se lisan, y la cantidad de AMPc se determina usando un ensayo competitivo que emplea un conjugado de AMPc marcado con alcalino-fosfatasa y un sustrato quimioluminiscente (Tropix® CDPD®). La actividad de AMPc dependiente de la concentración para el MMB GLP-1 wt de SEQ ID NO 4a (figura 3A) es comparable al péptido de GLP-1 (figura 3B) (EC_{50} = 11 nM vs. 0.4 nM, respectivamente). En un experimento similar, MMB GLP-1 de SEQ ID NO 4b (A2G) en un andamio IgG4 (figura 3C) y MMB GLP-1 de SEQ ID NO 4c (A2S) en un andamio IgG4 (figura 3D) ambos incrementan niveles de AMPc en células Rinm a un nivel más alto significativamente que MMB GLP-1 wt de SEQ ID NO 4a en un andamio IgG4.

Experimentos similares se repiten para el MMB GLP-1 de SEQ ID NO: 4 y resultados similares se obtienen.

EJEMPLO 5

Actividad *in vitro* de MMB GLP-1 como se mide por medio de AMPc

Un ensayo AMPc LANCE™ se usa para medir la actividad funcional de MMB GLP-1 en células INS-1E, una línea celular de insulinoma

de rata que expresa el receptor de GLP-1 de rata.

Materiales/métodos

Células INS-1E se cultivan en RPMI 1640/ FBS 10%/ L-glutamina 1%/ piruvato de sodio 1%/ aminoácidos no esenciales 1%/ β-mercaptoetanol 50 μM y se mantiene a 37°C en una incubadora humidificada con CO_2 5%. Equipos AMPc LANCE se adquieren de Perkin Elmer (Boston, MA). El péptido de GLP-1 se adquiere de Sigma (St Louis, MO). Los datos se analizan en GraphPad PRISM, versión 4.03.

Ensayo AMPc

Células INS-1E se colocan en placas a 100,000 células/pozo en placas de 96 pozos (Costar 3610) y se dejan recuperar 4 días en medio de crecimiento normal. El medio se aspira de los pozos y 24 μl de anticuerpo anti-AMPc Alexa Fluor 647 (Equipo AMPc LANCE, Perkin Elmer, Boston, MA) se añaden seguido por 24 μl de MMB GLP-1 de SEQ ID NO 4 (en PBS/ BSA 0.5%/ IBMX 0.5 mM). Las células se estimulan a temperatura ambiente durante 7 minutos y se lisan por cada protocolo del fabricante. Las placas se incuban a temperatura ambiente durante 1 hora y la intensidad de fluorescencia se mide a 665 nm. Concentraciones de AMPc se determinan usando una curva estándar.

Resultados

La concentración de AMPc se grafica contra la concentración de MMB GLP-1 de SEQ ID NO 4 (nM) y los puntos se ajustan a una hipérbola, proporcionando una EC_{50} de 8.7 nM (figura 18A). Los datos obtenidos con péptido GLP-1 se grafica de la misma manera, proporcionando una EC_{50} de 0.11 nM (figura 18B).

EJEMPLO 6

Ensayo de escisión DPP-IV

Ya que GLP-1 se inactiva rápidamente por medio de DPP-IV, un ensayo *in vitro* se establece para cuantificar MMB GLP-1 de SEQ ID NO 4a (es decir no escindido) intacto. Brevemente, MMB GLP-1 de SEQ ID NO 4a o péptido (1.2 nM) se incuba a temperatura ambiente con DPP-IV (1 µg/ml, R&D Systems). Después de varias veces (0, 5, 10, 15, 20, 30, 40 minutos), un inhibidor de DPP-IV (100 µM, Linco) se añade para templar la reacción. La cantidad de MMB GLP-1 de SEQ ID NO 4a intacto o péptido se mide usando ELISA activo de GLP-1 (Linco) y el MMB GLP-1 de SEQ ID NO 4a o péptidos para las curvas estándar respectivas. La figura 4 muestra que MMB GLP-1 de SEQ ID NO 4a es más resistente significativamente a la escisión por medio de DPP-IV, en relación al péptido de GLP-1.

Experimentos similares se repiten para el MMB GLP-1 de SEQ ID NO: 4 y resultados similares se obtienen.

EJEMPLO 7

Ensayo de estabilidad de suero humano

La estabilidad del MMB GLP-1 en suero también se mide para asegurar que las otras proteasas de suero no sean capaces de escindir e inactivar el MMB GLP-1. Brevemente, péptido de GLP-1 o el MMB GLP-1 de SEQ ID NO 4c (30 nM) se incuba en suero humano a 37°C. Después de varias veces, las reacciones se templan con un inhibidor de DPP-IV (100 μM, Linco), y las muestras se analizan usando ELISA activo GLP-1 de Linco. La figura 5 muestra que el MMB GLP-1 de SEQ ID NO 4c es estable en suero humano durante 24 horas mientras el péptido se deteriora rápidamente.

Experimentos similares se repiten para el MMB GLP-1 de SEQ ID NO: 4 y resultados similares se obtienen.

EJEMPLO 8

MMB GLP-1 causa secreción de insulina en células RINm

Para analizar el efecto de MMB GLP-1 en secreción de insulina, células RINm se tratan con concentraciones incrementadas de péptido de GLP-1 (7-36) (0-5 nM) exendin-4 péptido (0-5 nM), o varios mimeticuerpos de GLP-1 (5 o 50 nM) y la cantidad de insulina secretada se mide vía ELISA. Todos los MMB GLP-1 analizados tienen actividades en la estimulación de secreción de insulina en células RINm (figura 6). En 50 nM, los MMB tienen

actividades comparables a aquellas del péptido de GLP-1 tipo silvestre (7-36).

EJEMPLO 9

Actividad *in vitro* de MMB GLP-1 como se mide por medio de secreción de insulina

Un ensayo de secreción de insulina adicional se desarrolla para medir la actividad *in vitro* funcional del MMB GLP-1 de SEQ ID NO 4.

Cultivo celular

Células INS-1E se cultivan en RPMI 1640/ FBS 10%/ L-glutamina 1%/ piruvato de sodio 1%/ aminoácidos no esenciales 1%/ β-mercaptoetanol 50 μM y se mantiene a 37°C en una incubadora humidificada con CO_2 5%. Los datos se analizan en GraphPad PRISM, versión 4.03.

Ensayo de secreción de insulina

Células INS-1E se colocan en placas a 100,000 células/pozo en placas de 96 pozos (Costar 3610) y se deja recuperar 4 días en medio de crecimiento normal. Las células se lavan dos veces y 0.1 ml de regulador de pH KRBH/ glucosa 3 mM se añade. Las células se dejan equilibrar en este regulador de pH durante 2 horas. El medio se remueve y 0.12 ml de MMB GLP-1 de SEQ ID NO 4 en KRBH con glucosa 6.5 mM se añade por pozo. Veinte microlitros de sobrenadante se remueven por pozo para el punto de

tiempo T = 0. Las células se incuban durante dos horas a 37°C en CO_2 5% y veinte microlitros de sobrenadante se remueven por pozo. Los sobrenadantes se congelan a -20°C hasta que se realiza ELISA de insulina. Las concentraciones de insulina se determinan usando un equipo ELISA Ultra Sensitive Rat Insulin (Cristal Chem).

Resultados

Los datos se grafican como la cantidad de insulina secretada en cada concentración de MMB GLP-1 de SEQ ID NO 4 (figura 19). MMB GLP-1 de SEQ ID NO 4 (25 nM) incrementa significativamente la cantidad de insulina secretada en el sobrenadante.

EJEMPLO 10

MMB GLP-1 disminuye el nivel de glucosa en ratones db/db

Ratones de seis semanas de edad db/db se dejan en ayunas durante 2 horas y después se dosifican de manera intravenosa con vehículo, péptido de GLP-1, o MMB GLP-1 de SEQ ID NO 4c (A2S). Glucosa en sangre se monitorea 0.5, 1, 2, 3 y 4 horas después de la dosificación. El péptido de GLP-1 disminuye la glucosa en sangre en 30 minutos, pero en 60 minutos, la glucosa en sangre empieza a incrementar nuevamente probablemente debido a la vida media corta del péptido de GLP-1. En comparación, MMB GLP-1 de SEQ ID NO 4c (A2S) en una dosis de 100 veces menor que la dosis de

péptido de GLP-1 induce una disminución en glucosa en sangre a lo largo de todo el periodo de 4 horas (figura 7A). Además, la disminución en glucosa en sangre es dependiente de la dosis (figura 7B).

Experimentos similares se repiten para el MMB GLP-1 de SEQ ID NO: 4 y resultados similares se obtienen.

EJEMPLO 11

Farmacocinéticas de MMB GLP-1 en ratones y en monos cynomolgus

Para medir las farmacocinéticas de cuatro mimeticuerpos de GLP-1 (A2G, A2S, exendin-cap, y wt) (SEQ ID NO 4b, SEQ ID NO 4c, SEQ ID NO 4d, y SEQ ID NO 4a, respectivamente), ratones C57/B16 se dosifican de manera intravenosa con 1 mg/kg del MMB. Plasma se obtiene vía perforación cardiaca después de sacrificar a los ratones en diferentes puntos del tiempo. Varios ELISA se usan para medir Fc, MMB total, MMB activo, y péptido activo como son metabolizados en el animal. MMB activo refleja el N-terminal intacto del péptido unido todavía a la región Fc del mimeticuerpo. La sustitución del segundo aminoácido en el péptido (alanina) con una serina o una glicina prolonga el tiempo de vida del MMB activo en la circulación.

Monos cynomolgus se inyectan de manera intravenosa con 1.0 mg/kg de cuatro diferentes constructos MMB GLP-1 y muestras de suero se toman en diferentes puntos de tiempo de 10 minutos a 5 días después de la dosificación. Las muestras de suero se evalúan por medio de ELISA para

cuantificar MMB intacto. Como se ilustra en la figura 8, todos los cuatro MMB exhiben una fase distribución rápida, seguido por una fase de clarificación más lenta. Las constantes farmacocinéticas se calculan para cada uno de los constructos para indicar un $T^{1/2}$ de aproximadamente 3 días con exposición similar determinada por medio de AUC de T = 0 a T = 120 horas.

Experimentos similares se repiten para el MMB GLP-1 de SEQ ID NO: 4 y resultados similares se obtienen.

EJEMPLO 12

Caracterización farmacocinética de MMB GLP-1 en ratas y monos

MMB GLP-1 se diseña para mantener la bioactividad de GLP-1 mientras extiende su perfil farmacocinético (PK).

Farmacocinéticas en ratas

Ratas derivadas de Sprague-Dawley se tratan con una dosis sencilla subcutánea o intravenosa de MMB GLP-1 de SEQ ID NO: 4 (3.0 mg/kg, lote # 88-3173) (1). Aproximadamente 300 µl de sangre se colectan en varios momentos después de la dosificación en citrato de sodio (3.8%) que contiene inhibidores de proteasa (Roche Complete EDTA libre, Roche Applied Science Indianápolis, IN) e inhibidores DPP4 (Linco, St. Charles, MO). Plasma se aísla y se almacena a -80°C hasta que las muestras se puedan analizar. La concentración de MMB GLP-1 de SEQ ID NO: 4 intacto se mide usando una

tecnología de descubrimiento mesoescala (MSD) [3-7]. Brevemente, las muestras de plasma se diluyen en serie por medio de BioMek para un total de 4 diluciones, sin mezcla, 1:8, 1:64 y 1:512. Curvas estándar idénticas en plasma puro se incluyen en cada placa. MMB GLP-1 de SEQ ID NO: 4 se captura en placas MSD mediante anticuerpo monoclonal biotinilado (CNTO1626) designado para detectar N-terminal intacto de MMB GLP-1 de SEQ ID NO: 4. Anticuerpo monoclonal marcado con rutenio que reconoce una región enlazadora en MMB GLP-1 de SEQ ID NO: 4 (CNTO712) se añaden para detección y las respuestas de luminiscencia se determinan usando el lector 6000 formador de imagen sector MSD. El nivel de MMB GLP-1 de SEQ ID NO: 4 se calcula usando una curva de respuesta a dosis sigmoidal (GraphPad PRISM).

Farmacocinéticas en monos

Monos cynomolgus se dosifican intravenosamente con MMB GLP-1 de SEQ ID NO: 4 (1.0 mg/kg, lote # 8833013) en el Diabetes Research Institute, Universidad de Miami (2). Los monos se restringen químicamente con HCl cetamina (100 mg/ml, 10 mg/kg) antes de la dosificación y colecciones de sangre. MMB GLP-1 de SEQ ID NO: 4 se administra en un volumen de dosis de 2.2 ml/kg a una tasa de 1 ml/minuto. Aproximadamente 2 ml de sangre se colectan en varios puntos de tiempo después de la dosificación en citrato de sodio (3.8%) que contiene inhibidores de proteasa (Roche Complete EDTA libre, Roche Applied Science, Indianápolis, IN) e

inhibidores de DPP4 (Linco, Et. Charles, MO). Plasma se aísla y se almacena a -80°C hasta que las muestras se puedan analizar. Concentraciones de MMB GLP-1 de SEQ ID NO: 4 en el plasma se miden como se describió anteriormente.

Análisis de datos

Análisis no divisional (NCA) se emplea para calcular los parámetros farmacocinéticos de MMB GLP-1 de SEQ ID NO: 4 (WinNonlin, versión 5.1, Pharsight Corporation, Mountain View, CA). La concentración de suero máxima, Cmáx y el tiempo para alcanzar Cmáx (Tmáx), se obtienen de inspección de la concentración de suero vs. perfiles de tiempo. El área bajo la curva de concentración (AUC) desde el tiempo 0 al último punto de tiempo con niveles cuantificables de MMB GLP-1 de SEQ ID NO: 4 se calcula (AUC (0-7 d) para rata, AUC (0-21 d) para mono), así como la AUC desde el tiempo 0 a infinito. Los valores de AUC se obtienen por medio de integración trapezoidal lineal. La constante de proporción terminal (λz) se determina por análisis de regresión de mínimos cuadrados de la porción log-lineal de la fase terminal. La vida media terminal, t1/2, se calcula de la relación de 0.693 y λz.

Resultados

Farmacocinéticas en ratas: El perfil farmacocinético de plasma de MMB GLP-1 de SEQ ID NO: 4 en ratas después de una administración sc e iv sencilla se muestra (figura 20A). El análisis farmacocinético completo de

los datos de rata se muestran en el cuadro 1. La vida media terminal de MMB GLP-1 de SEQ ID NO: 4 es modelada para ser 1.5 días después de la dosificación iv y 1.7 días después de la dosificación sc. La biodisponibilidad de MMB GLP-1 de SEQ ID NO: 4 después de administración sc es aproximadamente 22%.

CUADRO 2

Características farmacocinéticas de MMB GLP-1 de SEQ ID NO: 4 en ratas SD después de administración sc e iv sencilla (3 mg/kg)

Material (ruta)	Cmáx ug/ml	Tmáx día	AUC (0-7d) Día*ug/ml	AUCinf Día* ug/ml	Cl ml/ día/ kg	Vss ml/kg	T1/2 día	F %
MMB GLP-1 (iv) de SEQ ID NO 4 media	53.91	na	23.61	23.86	125.90	110.07	1.48	na
sd	5.03	na	1.11	1.06	5.59	7.32	0.49	na
%CV	9.3	na	4.7	4.4	4.4	6.7	33.0	na
MMB GLP-1 (sc) de SEQ ID NO 4 media	2.29	0.83	5.04	5.20	na	na	1.73	21.85
sd	0.10	0.29	0.20	0.30	na	na	1.10	1.85
%CV	4.5	34.6	4.0	5.7	na	na	63.7	8.5

Material (ruta)	Cmáx ug/ml	Tmáx día	AUC (0-7d) Día*ug/ml	AUCinf Día* ug/ml	Cl ml/ día/ kg	Vss ml/kg	T1/2 día	F %
MMB GLP-1 (iv) de SEQ ID NO 4 media	53.91	na	23.61	23.86	125.90	110.07	1.48	na
sd	5.03	na	1.11	1.06	5.59	7.32	0.49	na
%CV	9.3	na	4.7	4.4	4.4	6.7	33.0	na
MMB GLP-1 (sc) de SEQ ID NO 4 media	2.29	0.83	5.04	5.20	na	na	1.73	21.85
sd	0.10	0.29	0.20	0.30	na	na	1.10	1.85
%CV	4.5	34.6	4.0	5.7	na	na	63.7	8.5

Farmacocinéticas en monos

El perfil farmacocinético de plasma de MMB GLP-1 en monos después de administración iv sencilla se muestra (Figura 20B). El análisis farmacocinético completo se muestra brevemente en el cuadro 2. La vida media terminal de MMB GLP-1 en monos se modela para ser de 2.9 días.

CUADRO 3

Características farmacocinéticas de MMB GLP-1 de SEQ ID NO 4 en monos cynomolgus después de administración iv sencilla (1 mg/kg)

Parámetros PK		Concentración media (ug/ml)	sd	% CV
Cmáx	ug/ml	40.09	9.28	23.1
AUC(0-21)	día*ug/ml	41.92	10.25	24.4
AUCinf	día*ug/ml	42.05	10.29	24.5
Cl	ml/día/kg	24.81	6.38	25.7
Vss	ml/kg	50.18	19.07	38.0
Vz	ml/kg	105.40	34.92	33.1
T1/2	día	2.93	0.37	12.7

EJEMPLO 13

Efectos de MMB GLP-1 durante una prueba de tolerancia de glucosa oral en ratones diabéticos

Ratones db/db diabéticos de ocho semanas de edad se tienen en ayunas durante 6 horas antes de una inyección subcutánea del MMB GLP-1 de SEQ ID NO: 4c (0.02 a 2 mg/kg). Después de la dosificación, los ratones se mantienen en ayunas durante seis horas adicionales y una glucosa en sangre en ayunas de línea base se mide. En t = 0, a los ratones se les da 1.0 mg/g de glucosa con sonda oral, y la glucosa en sangre se mide en varios momentos. Los resultados mostrados en la figura 9 indican que el MMB GLP-1 de SEQ ID NO: 4c es efectivo en la disminución de la excursión de glucosa durante una prueba de tolerancia de glucosa en todas las dosis analizadas.

Experimentos similares se repiten para el MMB GLP-1 de SEQ ID NO: 4 y resultados similares se obtienen.

EJEMPLO 14

Efectos de MMB GLP-1 en glucosa en sangre en ayunas durante dosificación crónica a ratones diabéticos

Ratones db/db diabéticos de diez semanas de edad se dosifican diariamente con vehículo o MMB GLP-1 de SEQ ID NO: 4c (1 mg/kg) durante seis semanas. La glucosa en sangre en ayunas se mide dos veces por

semana durante el curso del estudio. La glucosa en sangre en ayunas se reduce en los animales tratados en relación a los controles en todo el estudio (figura 10), y por seis semanas, la diferencia es más de 200 mg/dl (466 vs 221 mg/dl, animales control y tratados, respectivamente).

Experimentos similares se repiten para el MMB GLP-1 de SEQ ID NO: 4 y resultados similares se obtienen.

EJEMPLO 15

Efectos de MMB GLP-1 en prueba de tolerancia de glucosa oral después de dosificación crónica a ratones diabéticos

Como en el ejemplo 11, ratones diabéticos db/db de diez semanas de edad se dosifican diariamente con vehículo o MMB GLP-1 de SEQ ID NO: 4c (1 mg/kg) durante seis semanas. Después de 40 días de dosificación, los ratones se les proporcionan una prueba de tolerancia a glucosa oral. Brevemente, en t = 0, ratones se alimentan con sonda oral con 1.0 mg/g de glucosa, y glucosa en sangre se mide en varios momentos. Los resultados mostrados en la figura 11 indican que el MMB GLP-1 de SEQ ID NO: 4c es efectivo en la disminución de la excursión de glucosa durante una prueba de tolerancia de glucosa oral sugiriendo que los ratones tratados crónicamente con MMB GLP-1 de SEQ ID NO: 4c son capaces de disponer de una carga de glucosa más eficientemente en relación a animales de control.

Experimentos similares se repiten para el MMB GLP-1 de SEQ

ID NO: 4 y resultados similares se obtienen.

EJEMPLO 16

Efectos de MMB GLP-1 en reducción de HbA1 después de dosificación crónica a ratones diabéticos

Como en los ejemplos 11 y 12, ratones db/db diabéticos de diez semanas de edad se dosifican diariamente con vehículo o MMB GLP-1 de SEQ ID NO: 4c (1 mg/kg) durante seis semanas. Antes y después de seis semanas de dosificación, muestras de sangre entera se toman y analizan para porcentaje de HbA1c. Como se muestra en la figura 12, el HbA1C de los animales tratados con GLP-1 se incrementa un 109 por ciento durante el periodo de seis semanas mientras los animales tratados con control se incrementan un 142 por ciento. Estos datos sugieren que los animales tratados son más capaces de regular su glucosa en sangre sobre un periodo crónico en relación a los controles.

Experimentos similares se repiten para el MMB GLP-1 de SEQ ID NO: 4 y resultados similares se obtienen.

EJEMPLO 17

Efectos de MMB GLP-1 en una prueba de tolerancia a glucosa oral en monos cynomolgus normales

Una prueba de tolerancia a glucosa oral (OGTT) se realiza en monos cynomolgus normales antes de y seis días después de una dosis sencilla del MMB GLP-1 de SEQ ID NO: 4c (1 mg/kg). Brevemente, en t = 0, los monos se alimentan con una sonda oral con 2.0 mg/g de glucosa, y la glucosa en sangre se mide en varios momentos. Los niveles de glucosa en sangre se reducen significativamente en el OGTT realizada seis días después de la dosificación (figura 13A), y los niveles de insulina se incrementan significativamente (figura 13B). Esto sugiere que MMB GLP-1 de SEQ ID NO: 4c es causante de secreción de insulina del páncreas a concentraciones de glucosa elevadas.

Experimentos similares se repiten para el MMB GLP-1 de SEQ ID NO: 4 y resultados similares se obtienen.

EJEMPLO 18

Efectos de MMB GLP-1 en tinción de insulina en isletas de ratones diabéticos (db/db) después de una dosis sencilla

Ratones diabéticos (db/db) de veinte semanas de edad se tratan con una dosis subcutánea sencilla del MMB GLP-1 de SEQ ID NO: 4c (1.5

mg/kg), y la pancreata se recolectan cuatro semanas después. La pancreata se secciona y tiñe para la presencia de insulina.

Como se muestra en la figura 14, hay más tinción de insulina significativamente en los animales tratados en relación a los animales de control.

Experimentos similares se repiten para el MMB GLP-1 de SEQ ID NO: 4 y resultados similares se obtienen.

EJEMPLO 19

MMB GLP-1 retarda el vaciado gástrico en perros normales

Una cánula gástrica se implanta quirúrgicamente en perros beagle hembra (10-15 kg) bajo anestesia general y se dejan recuperar por al menos 2 semanas. Los perros se mantienen en ayunas durante 24 horas después de lo cual se les da acceso libre a agua. La cánula gástrica se abre y el jugo gástrico y residuos alimenticios se remueven con 40-50 ml de agua templada. Grupos de seis perros se dosifican de manera subcutánea con lidamidina, un agonista alfa2 (0.63 mg/kg), 60 minutos antes de la comida, un control positivo para retardar el vaciado gástrico. Los perros dosificados con el control de vehículo o MMB GLP-1 de SEQ ID NO: 4b (0.1 mg/kg) se dosifican de manera intravenosa en la vena cefálica 15 minutos antes de la comida. Cinco minutos antes de la comida, la cánula gástrica se abre para determinar la cantidad de fluido presente en el estómago para el valor de línea base y el

fluido es reintroducido rápidamente. Entonces una comida de prueba que consta de 250 ml de una solución de glucosa (5 g/l) se administra vía la cánula y se deja permanecer en el estomago durante 30 minutos. Los contenidos gástricos se drenan del estomago para medir el volumen total después de 30 minutos. Un ml de contenidos gástricos se retiene para el análisis y el volumen restante se reintroduce en el estomago vía la cánula. La valoración del volumen de contenido gástrico y recuperación de muestras se repite en 60, 90 y 120 minutos. Las concentraciones de glucosa se evalúan para las muestras colectadas y se usan para determinar la cantidad absoluta de glucosa restante en el estómago en cada punto del tiempo. El porcentaje de glucosa retenida en el estómago se determina del valor de inicio y la concentración de glucosa en cada punto de tiempo y se gráfica como una función del tiempo. El tiempo en el cual 50% de los contenidos gástricos se retienen se determina al ajustar las curvas a una exponencial sencilla. Como se muestra en la figura 15, 50% de los contenidos gástricos se vacía en perros dosificados con vehículo en 12.35±3.69 minutos después mientras el control positivo lidamidina y perros dosificados con MMB GLP-1 de SEQ ID NO: 4b muestran un retardo significativo en el vaciado gástrico (30.60±6.47 y 59.23±14.46, respectivamente).

Experimentos similares se repiten para el MMB GLP-1 de SEQ ID NO: 4 y resultados similares se obtienen.

EJEMPLO 20

MMB GLP-1 disminuye glucosa en sangre después de una prueba de tolerancia a glucosa oral (OGTT) en ratones obesos inducidos con la dieta

Para desarrollar un modelo murina de obesidad inducida por la dieta, los ratones se mantienen en una dieta con alto contenido de grasa por al menos 27 semanas. Los ratones empiezan a engordar y se determina que son diabéticos cuando los valores de glucosa en sangre en ayunas excede 120 mg/dl. Para evaluar el efecto de la terapia de MMB GLP-1 en niveles de glucosa en sangre postprandial, los ratones obesos inducidos con la dieta se mantienen en ayunas durante la noche y se dosifican de manera subcutánea con 0.02, 0.2 o 2 mg/kg de MMB GLP-1 de SEQ ID NO: 4c o vehículo control. Seis horas después de la dosificación, los ratones se alimentan con sonda gástrica con 1.5 mg/g de glucosa. Los niveles de glucosa en sangre se determinan antes de la dosificación MMB, en t = 0, 15, 30, 60, 90, 120, 150, y 180 minutos usando la sangre de la vena de la cola. Como se muestra en la figura 16, la disminución dependiente de la dosis de MMB GLP-1 de SEQ ID NO: 4c en valores de glucosa en sangre en ayunas se observa en t = 0 y todos los puntos de tiempo posteriores. Las áreas bajo la curva se calculan entre t = 0 y t = 180 demostrando una disminución significativa en la eliminación de glucosa en todas las dosis.

Experimentos similares se repiten para el MMB GLP-1 de SEQ

ID NO: 4 y resultados similares se obtienen.

EJEMPLO 21

MMB GLP-1 disminuye la glucosa en sangre en una prueba de tolerancia de glucosa intraperitoneal (IPGTT) en ratones db/db

Ratones macho db/db de aproximadamente 13-15 semanas de edad se asignan al azar en grupos de tratamiento de seis ratones con base en los niveles de glucosa en sangre en ayunas. Los ratones se dosifican con 0.02 mg/kg o 0.1 mg/kg de MMB GLP-1 de SEQ ID NO: 4c o 0.1 mg/kg de MMB de control negativo seis horas antes de la prueba de tolerancia a glucosa. Cinco minutos antes de la prueba de tolerancia a glucosa, una medición de glucosa se toma con un glucómetro sostenido con la mano de la sangre de la vena de la cola. Los ratones entonces se dosifican intraperitonealmente con 1 mg/g de D-glucosa y niveles de glucosa en sangre se monitorean en 10 minutos, 20 minutos, 30 minutos, 60 minutos, 90 minutos, 120 minutos, 150 minutos, y 180 minutos. Como se ilustra en la figura 17A, los niveles de glucosa en sangre son significativamente bajos en ambos grupos tratados con MMB GLP-1 de SEQ ID NO: 4c sobre el curso de tiempo completo. Grupos adicionales de animales tratados de la misma manera se sacrifican para la medición de niveles de insulina en t = 10 minutos. Existe un incremento dependiente de la dosis en la cantidad de insulina liberada 10 minutos después de la dosificación de MMB GLP-1 de SEQ ID

NO: 4c.

Experimentos similares se repiten para el MMB GLP-1 de SEQ ID NO: 4 y resultados similares se obtienen.

EJEMPLO 22

Estudio farmacodinámico agudo con MMB GLP-1

Para demostrar la actividad biológica de un MMB GLP-1 de SEQ ID NO 4, una prueba de tolerancia a glucosa intraperitoneal (ipGTT) se realiza en ratones obesos inducíos con dieta (DIO).

Materiales/métodos

D-glucosa se adquiere de Sigma. Los estudios descritos posteriormente usan ratones C57B1/6J (DIO) obesos inducidos con dieta que se inician en una dieta que contiene 60.9% de grasa (Purina TestDiets 58126) en 4 semanas de edad. Todos los animales logran tres semanas consecutivas de valores de glucosa en sangre en ayunas diabéticos (> 120 mg/dl) antes de su inclusión en el estudio. ipGTT: Treinta y cinco ratones se mantienen en ayunas durante la noche (16 horas) y se asignan al azar en 7 grupos (n = 5) con base en sus concentraciones de glucosa en ayunas. Diez minutos antes de la prueba de tolerancia a glucosa, los ratones se dosifican i.v. con PBS o MMB GLP-1 de SEQ ID NO: 4 (0.003, 0.01, 0.03, 0.1, 0.3 y 1.0 mg/kg). Cinco minutos antes de la prueba de tolerancia a glucosa, una medición de glucosa

en ayunas se hace de la sangre de la vena de la cola. En T = 0 minutos, los ratones se dosifican i.p. con D-glucosa (1.0 mg/g). Los niveles de glucosa en sangre se miden en 15, 30, 60, 90, 120, 150 y 180 minutos usando la sangre de la vena de la cola.

Resultados

Los niveles de glucosa en sangre medidos durante la prueba de tolerancia a glucosa se grafican como una función del tiempo (Figura 21A). El área bajo la curva se calcula y se reduce significativamente de una manera dependiente de la dosis en cinco de los grupos tratados con MMB GLP-1 de SEQ ID NO: 4 (0.01, 0.03, 0.1, 0.3, 1 mg/kg) en relación al grupo tratado con PBS (figura 21B). La AUC vs concentración de MMB GLP-1 de SEQ ID NO: 4 se ajusta a una hipérbola, proporcionando una ED_{50} de 14 μg/kg (figura 21C). Los datos se grafican y analizan en Graphpad PRISM, versión 4.03.

EJEMPLO 23

Efecto de un MMB GLP-1 en la ingesta de alimento, control glicémico y vaciado gástrico en ratones GLP-1R-/- y tipo silvestre

El propósito de este estudio es evaluar si un MMB GLP-1 afecta el control glicémico, ingesta de alimento y vaciado gástrico de una manera dependiente del receptor GLP-1. La administración (iv) intravenosa sencilla de un MMB GLP-1 de SEQ ID NO: 4 mejora la tolerancia a glucosa, reduce la

ingesta de alimento e inhibe el vaciado gástrico en ratones tipo silvestre, pero no en ratones knockout receptor GLP-1. Los resultados demuestran que el efecto de un MMB GLP-1 de SEQ ID NO: 4 en glucosa y metabolismo de energía es mediado vía el receptor de GLP-1.

Materiales/métodos

Animales: ratones tipo silvestre y GLP-1R-/- de misma edad, macho se asignan al azar en tres grupos de tratamiento (n = 5) con base en el peso corporal y glucosa en sangre en ayunas.

Ingesta de alimento: los ratones se mantienen en ayunas durante la noche y se inyectan con una dosis intravenosa sencilla (iv) de un MMB GLP-1 de SEQ ID NO: 4 (1 mg/kg), CNTO 1996 (1 mg/kg) (CNTO 1996 se usa en el estudio como un control negativo ya que carece del péptido de GLP-1 y una dosis equimolar de exendin-4 (0.07 mg/kg, adquirido de Sigma). Ingesta de alimento y agua se mide 4, 6, 24 y 48 horas después de la dosificación.

Prueba de tolerancia a glucosa (ipGTT): Los ratones se mantienen en ayunas durante la noche y se dosifican intravenosamente como se discutió anteriormente. La glucosa en ayunas se mide vía recortes de la cola usando un glucómetro sostenido con la mano (LifeScan). En t = 0 minutos, los ratones se dosifican i.p. con D-glucosa (1.0 mg/g, Sigma) y glucosa en sangre se mide después de 15, 30, 60, 90 y 120 minutos usando sangre de la vena de la cola.

Vaciado gástrico: Los ratones se mantienen en ayunas durante

la noche. La mañana siguiente los ratones se alimentan nuevamente durante 1 hora, la ingesta de alimento se registra y los ratones se mantienen sin alimento en el resto del estudio. Los ratones se dosifican de manera intravenosa como se discutió anteriormente. Dos horas después de la dosificación se asesinan sin dolor los ratones. El estomago se expone por medio de laparotomía, ligado en ambos el píloro y cardia y se remueven. El peso del contenido húmedo del estomago se mide. La ecuación 1 se usa para calcular el porcentaje de alimento restante en el estomago.

(Peso húmedo del contenido del estomago (g)/ingesta de alimento (g))*100 ecuación (1)

Resultados y discusión

Ingesta de alimento

La ingesta de alimento acumulativa para los ratones tipo silvestre y GLP-1R-/- durante un periodo de 24 horas después de la administración de fármaco se grafica (figura 22). MMB GLP-1 de SEQ ID NO: 4 (1 mg/kg) y una dosis equimolar de exendin-4 (0.07 mg/kg) resulta en una reducción estadísticamente significativa en la ingesta de alimento en animales tipo silvestre en comparación al grupo control, CNTO1996 (figura 22A). El MMB GLP-1 de SEQ ID NO: 4 y exendin-4 no tiene efecto en la ingesta de alimento en ratones GLP-1R-/- (figura 22B).

Prueba de tolerancia a la glucosa

Los datos obtenidos durante el ipGTT en ratones tipo silvestre y GLP-1R-/- se grafican como la concentración de glucosa en sangre versus tiempo (figura 23A y 23B). El área bajo la curva (AUC) se calcula para cada curva ipGTT individual (figura 23C). La administración sencilla de un MMB GLP-1 de SEQ ID NO: 4 y exendin-4 resulta en una reducción significativa estadísticamente en la AUC en animales tipo salvaje pero no en GLP-1R-/-.

Vaciado gástrico

El porcentaje de alimento remanente en el estomago 2 horas después de la dosificación en ratones tipo salvaje y GLP-1R-/- se grafica (figura 24). El MMB GLP-1 de SEQ ID NO: 4 (1 mg/kg) y una dosis equimolar de exendin-4 (0.07 mg/kg) resulta en un incremento estadísticamente significativo en el contenido de estomago en el ratón tipo silvestre en comparación al control, CNTO1996. Los datos demuestran que el MMB GLP-1 de SEQ ID NO: 4 y exendin-4 inhiben el vaciado gástrico en animales tipo silvestre. El MMB GLP-1 de SEQ ID NO: 4 y exendin-4 no tienen efecto en el vaciado gástrico en ratones GLP-1R-/-.

EJEMPLO 24

Correlación de la actividad farmacodinámica de un MMB GLP-1 con su perfil farmacocinético en ratones DIO

El propósito de este estudio es correlacionar el efecto de un MMB GLP-1 en la regulación de tolerancia a glucosa con su perfil farmacocinético en ratones obesos inducidos con la dieta (DIO). Los animales se dosifican (iv) con un MMB GLP-1 de SEQ ID NO: 4 (1 mg/kg) y pruebas de tolerancia a glucosa se realizan en varias post-dosificaciones en el tiempo.

Simultáneamente, las muestras de sangre se colectan para valorar niveles de MMB GLP-1 de SEQ ID NO: 4. El MMB GLP-1 de SEQ ID NO: 4 mejora la tolerancia a glucosa en ratones DIO con una ED_{50} de aproximadamente 370 ng/ml.

Materiales/métodos

Animales/tratamientos: ratones C57B1/6J se inician en 4 semanas de edad en una dieta que contiene 60.9% de grasa (Purina TestDiets 58126). En el momento del inicio del estudio, todos los animales logran tres semanas consecutivas de valores de glucosa en sangre en ayunas diabéticos (> 120 mg/dl). Los ratones DIO se asignan al azar en grupos de tratamiento con base en glucosa en sangre en ayunas y se dosifican (iv) con MMB GLP-1 de SEQ ID NO: 4 (1 mg/kg, lote # 8833173) o PBS. En varias post-dosificaciones en el tiempo, las pruebas de tolerancia a glucosa se

resalían y las muestras en sangre se colectan para medir niveles en plasma MMB GLP-1 de SEQ ID NO: 4 como se describe posteriormente.

Prueba de tolerancia a glucosa (ipGTT): Los ratones se mantienen durante la noche (16 horas) antes de la prueba. En la mañana una glucosa en ayunas se mide vía recortes de la cola usando un glucómetro sostenido con la mano (LifeScan). En T = 0 minutos, los ratones se dosifican i.p. con D-glucosa (1.0 mg/g, Sigma). Los niveles de glucosa en sangre se miden en 15, 30, 60, 90, y 120 minutos usando la sangre de la vena de la cola.

Niveles de plasma MMB GLP-1: muestras de sangre se colectan después de ipGTT vía perforación cardiaca. Aproximadamente 300 µl de sangre se colecta en citrato de sodio (3.8%) que contiene inhibidores de proteasa (Roche Complete EDTA libre, Roche Applied Science, Indianápolis, IN) e inhibidores de DPP4 (Linco, Et. Charles, MO). La concentración de MMB GLP-1 intacto de SEQ ID NO: 4 se mide usando una tecnología de descubrimiento mesoescala (MSD) [2-5]. Brevemente, las muestras de plasma se diluyen en serie por medio de BioMek Fx para un total de 4 diluciones, sin mezcla, 1:8, 1:64 y 1:512. Curvas estándar diluidas de la misma manera con plasma se incluyen en cada placa. MMB GLP-1 se captura en las placas MSD por medio de un anticuerpo monoclonal biotinilado (CNTO1626) designado para detectar N-terminal intacto del mimeticuerpo. Un anticuerpo monoclonal marcado con rutenio que reconoce la región enlazadora del mimeticuerpo

(CNTO712) se añaden para detección y las respuestas de luminiscencia se determinan usando el lector 6000 formador de imagen sector MSD. El nivel de MMB GLP-1 de SEQ ID NO: 4 se calcula usando una curva de respuesta a dosis sigmoidal (GraphPad PRISM).

Resultados y discusión

Farmacodinámicas de un MMB GLP-1

Los datos ipGTT de cada punto en el tiempo se grafican como la concentración de glucosa en sangre versus tiempo (figura 25). El área bajo la curva (AUC) se calcula para cada curva ipGTT individual (figura 26). La administración sencilla del MMB GLP-1 de SEQ ID NO: 4 resulta en una reducción significativa estadísticamente en la AUC hasta 6 días después de la inyección en relación al control negativo.

Farmacocinéticas de MMB GLP-1

La concentración de plasma del MMB GLP-1 de SEQ ID NO: 4 en ratones DIO después de cada prueba de tolerancia a glucosa se grafica (figura 27).

Correlación de actividad farmacodinámica de MMB GLP-1 con sus niveles de plasma

La AUC para todos los datos ipGTT se grafican versus los

niveles de plasma de MMB GLP-1 de SEQ ID NO: 4 después de cada prueba de tolerancia a glucosa (figura 28). Los datos se ajustan a una hipérbola para obtener el ED_{50} (370 ng/ml).

Ventajas de mimeticuerpo de GLP-1

El uso de esta molécula novedosa como un terapéutico para tratar la diabetes tipo 2 provee varias ventajas sobre otros análogos de GLP-1. Por ejemplo, es probable prolongar la vida media del péptido de GLP-1. También, el péptido de GLP-1 tipo silvestre en el andamio de mimeticuerpo es resistente a la degradación de proteasa, específicamente DPP-IV. Esto puede permitir el tratamiento con el péptido de GLP-1 tipo silvestre más que un péptido mutante. Ya que GLP-1 es un péptido nativo, puede ser una respuesta menos inmune en pacientes tratados con un mimeticuerpo de GLP-1 que en pacientes tratados con un análogo de GLP-1 mutado. Además, el gran tamaño del mimeticuerpo puede evitar el cruzamiento de la barrera sangre-cerebro. Esto puede ofrecer una ventaja ya que la nausea y ansiedad se han asociado con GLP-1 acoplando el GLP-1R en el cerebro. Además, la plataforma de mimeticuerpo resulta en la expresión de dos péptidos en cada molécula de mimeticuerpo. Esto puede permitir que los péptidos de GLP-1 interactúen entre sí, formando un ligando dimérico que puede incrementar la afinidad al receptor de GLP-1 superficie celular.

Será claro que la invención se puede practicar de otra forma a la descrita particularmente en la descripción y ejemplos anteriores.

Numerosas modificaciones y variaciones de la presente invención son posibles en vista de las enseñanzas anteriores y, por lo tanto, se encuentran dentro del alcance de la presente invención.

CUADRO 1

SEQ ID NO			AA NO TOTAL	REGIONES	
				FR1	FR4
47	Región variable de cadena pesada	Vh1	125	1-31	81-125
48		Vh2	97	1-30	80-97
49		Vh3a	102	1-30	80-102
50		Vh3b	102	1-30	80-102
51		Vh3c	94	1-30	80-94
52		Vh4	106	1-30	80-106
53		Vh5	97	1-30	80-97
54		Vh6	91	1-30	80-91
55		Vh7	91	1-30	80-91

SEQ ID NO			AA NO	REGIONES						
				Bisagra 1	Bisagra 2	Bisagra 3	Bisagra 4	CH2	CH3	CH4
56	Región	IgA1	354	103-122				123-222	223-354	
57		IgA2	340	103-108				109-209	210-340	
58	constante	IgD	384	102-135	319-497			160-267	268-384	
59		IgE	497					104-210	211-318	319-497
60	de	IgG1	339	99-121				122-223	224-339	
61		IgG2	326	99-117				118-219	220-326	
62	cadena	IgG3	377	99-115		131-145	146-168	169-270	271-377	
63	pesada	IgG4	327	99-110	324-476			111-220	221-327	
64		IgM	476					105-217	218-323	324-476

NOVEDAD DE LA INVENCION

REIVINDICACIONES

1.- Al menos un ácido nucleico de mimeticuerpo suprimido CH1 de GLP-1, que comprende al menos un polinucleótido que codifica la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NOS: 2 o 4, o un polinucleótido complementario a esto, dicho mimeticuerpo suprimido CH1 de GLP-1 tiene al menos una actividad biológica de GLP-1 *in vitro* o *in vivo* y que comprende adicionalmente al menos un sitio de glicosilación N-enlazado.

2.- Al menos un ácido nucleico de mimeticuerpo suprimido CH1 de GLP-1, que comprende al menos un polinucleótido que codifica la secuencia de aminoácidos que comprende al menos una seleccionada de SEQ ID NOS: 2, 4, 6 o 7-14, o un polinucleótido complementario a esto, en donde dicho mimeticuerpo suprimido CH1 de GLP-1 tiene al menos una actividad biológica de GLP-1 *in vitro* o *in vivo* y que comprende adicionalmente al menos un sitio de glicosilación N-enlazado.

3.- Al menos un ácido nucleico de mimeticuerpo suprimido CH1 de GLP-1 de conformidad con la reivindicación 2, caracterizado además porque comprende al menos un polinucleótido que codifica la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NOS: 2 o 4, o un polinucleótido complementario a esto, en donde dicho mimeticuerpo suprimido CH1 de GLP-1 tiene al menos una actividad biológica de GLP-1 *in vitro* o *in vivo* y que comprende

adicionalmente al menos un sitio de glicosilación N-enlazado.

4.- Al menos un ácido nucleico de mimeticuerpo suprimido CH1 de GLP-1, que comprende al menos un polinucleótido que codifica un polipéptido de acuerdo a la fórmula (I): (Pep(n)-L(o)-V(p)-H(q)-CH2(r)-CH3(s))(t), en donde P comprende al menos un péptido de GLP-1 bioactivo seleccionado de SEQ ID NOS: 1 o 6, L es al menos una secuencia enlazadora que comprende Ser y Gly, V es al menos una porción de una C-terminal de una región variable de inmunoglobulina, H es al menos una porción de una región de bisagra variable de inmunoglobulina, CH2 es al menos una porción de una región constante CH2 de inmunoglobulina, CH3 es al menos una porción de una región constante CH3 de inmunoglobulina, n es un número entero de 1 a 10, y o, p, q, r, s y t pueden ser independientemente un número entero de 0 a 10, en donde dicho mimeticuerpo suprimido CH1 de GLP-1 tiene al menos una actividad biológica de GLP-1 *in vitro* o *in vivo* y que comprende adicionalmente al menos un sitio de glicosilación N-enlazado.

5.- Al menos un polipéptido de mimeticuerpo suprimido CH1 de GLP-1, que comprende todos los aminoácidos contiguos de SEQ ID NOS: 2 o 4, en donde dicho polipéptido de mimeticuerpo suprimido CH1 de GLP-1 tiene al menos una actividad biológica de GLP-1 *in vitro* o *in vivo* y que comprende adicionalmente al menos un sitio de glicosilación N-enlazado.

6.- Al menos un polipéptido de mimeticuerpo suprimido CH1 de GLP-1, que comprende todos los aminoácidos contiguos de al menos una de SEQ ID NOS: 7-14, en donde dicho polipéptido de mimeticuerpo suprimido

CH1 de GLP-1 tiene al menos una actividad biológica de GLP-1 *in vitro* o *in vivo* y que comprende adicionalmente al menos un sitio de glicosilación N-enlazado.

7.- Al menos un polipéptido de mimeticuerpo suprimido CH1 de GLP-1, que comprende un polipéptido de acuerdo a la fórmula (I): (Pep(n)-L(o)-V(p)-H(q)-CH2(r)-CH3(s))(t), en donde P es al menos un péptido de GLP-1 bioactivo seleccionado de SEQ ID NOS: 1 y 6, L se selecciona de GS, GGS, GGGS (SEQ ID NO:16), GSGGGS (SEQ ID NO:17), GGSGGGS (SEQ ID NO:18), GGSGGGSGG (SEQ ID NO:19) y GGGSGGGSGG (SEQ ID NO:20); V se selecciona de GTLVTVSS (SEQ ID NO:21), GTLVAVSS (SEQ ID NO:22), GTAVTVSS (SEQ ID NO:23), TVSS (SEQ ID NO:24), y AVSS (SEQ ID NO:25); H es EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGP (SEQ ID NO:26), CH2 es SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK (SEQ ID NO:43), CH3 es GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSPGK (SEQ ID NO:44), n es un número entero de 1 a 10, y o, p, q, r, s y t pueden ser independientemente un número entero de 0 a 10, en donde dicho mimeticuerpo suprimido CH1 de GLP-1 tiene al menos una actividad biológica de GLP-1 *in vitro* o *in vivo* y que comprende adicionalmente al menos un sitio de glicosilación N-enlazado.

8.- Al menos un polipéptido de mimeticuerpo suprimido CH1 de

GLP-1, que comprende un polipéptido de acuerdo a la fórmula (I): (Pep(n)-L(o)-V(p)-H(q)-CH2(r)-CH3(s))(t), en donde P es al menos un péptido de GLP-1 bioactivo de SEQ ID NO: 6, L se selecciona de GS, GGS, GGGS (SEQ ID NO:16), GSGGGS (SEQ ID NO:17), GGSGGGS (SEQ ID NO:18), GGSGGGSGG (SEQ ID NO:19) y GGGSGGGSGG (SEQ ID NO:20); V se selecciona de GTLVTVSS (SEQ ID NO:21), GTLVAVSS (SEQ ID NO:22), GTAVTVSS (SEQ ID NO:23), TVSS (SEQ ID NO:24), y AVSS (SEQ ID NO:25); H es ESKYGPPCPSCPAPEFLGGP (SEQ ID NO:27), CH2 es SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAK (SEQ ID NO:45), CH3 es GQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSLGK (SEQ ID NO:46), n es un número entero de 1 a 10, y o, p, q, r, s y t pueden ser independientemente un número entero de 0 a 10, en donde dicho mimeticuerpo suprimido CH1 de GLP-1 tiene al menos una actividad biológica de GLP-1 *in vitro* o *in vivo* y que comprende adicionalmente al menos un sitio de glicosilación N-enlazado.

9.- Al menos un polipéptido de mimeticuerpo suprimido CH1 de GLP-1, que comprende un polipéptido de acuerdo a la fórmula (I): (Pep(n)-L(o)-V(p)-H(q)-CH2(r)-CH3(s))(t), en donde P es al menos un péptido de GLP-1 bioactivo de SEQ ID NO: 6, L se selecciona de GS, GGS, GGGS (SEQ ID NO:16), GSGGGS (SEQ ID NO:17), GGSGGGS (SEQ ID NO:18),

GGSGGGSGG (SEQ ID NO:19) y GGGSGGGSGG (SEQ ID NO:20); V se selecciona de GTLVTVSS (SEQ ID NO:21), GTLVAVSS (SEQ ID NO:22), GTAVTVSS (SEQ ID NO:23), TVSS (SEQ ID NO:24), y AVSS (SEQ ID NO:25); H es ESKYGPPCPPCPAPEAAGGP (SEQ ID NO:28), CH2 es SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAK (SEQ ID NO:45), CH3 es GQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSLGK (SEQ ID NO:46), n es un número entero de 1 a 10, y o, p, q, r, s y t pueden ser independientemente un número entero de 0 a 10, en donde dicho mimeticuerpo suprimido CH1 de GLP-1 tiene al menos una actividad biológica de GLP-1 *in vitro* o *in vivo* y que comprende adicionalmente al menos un sitio de glicosilación N-enlazado.

10.- Al menos un polipéptido de mimeticuerpo suprimido CH1 de GLP-1, que comprende un polipéptido de acuerdo a la fórmula (I): (Pep(n)-L(o)-V(p)-H(q)-CH2(r)-CH3(s))(t), en donde P es al menos un péptido de GLP-1 bioactivo, variante o derivado, L es al menos una secuencia enlazadora, que puede ser un polipéptido que provee flexibilidad estructural al permitir que el mimeticuerpo tenga orientaciones alternas y propiedades de unión, V es al menos una porción de una C-terminal de una región variable de inmunoglobulina, H es al menos una porción de una región de bisagra variable de inmunoglobulina, CH2 es

SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK (SEQ ID NO:43), CH3 es GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSPGK (SEQ ID NO:44), n es un número entero de 1 a 10, y o, p, q, r, s y t pueden ser independientemente un número entero de 0 a 10, en donde dicho mimeticuerpo suprimido CH1 de GLP-1 tiene al menos una actividad biológica de GLP-1 *in vitro* o *in vivo* y que comprende adicionalmente al menos un sitio de glicosilación N-enlazado.

11.- Al menos un polipéptido de mimeticuerpo suprimido CH1 de GLP-1, que comprende un polipéptido de acuerdo a la fórmula (I): (Pep(n)-L(o)-V(p)-H(q)-CH2(r)-CH3(s))(t), en donde P es al menos un péptido de GLP-1 bioactivo, variante o derivado, L es al menos una secuencia enlazadora, que puede ser un polipéptido que provee flexibilidad estructural al permitir que el mimeticuerpo tenga orientaciones alternas y propiedades de unión, V es al menos una porción de una C-terminal de una región variable de inmunoglobulina, H es al menos una porción de una región de bisagra variable de inmunoglobulina, CH2 es SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAK (SEQ ID NO:45), CH3 es GQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY

KTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSLGK (SEQ ID NO:46), n es un número entero de 1 a 10, y o, p, q, r, s y t pueden ser independientemente un número entero de 0 a 10, en donde dicho mimeticuerpo suprimido CH1 de GLP-1 tiene al menos una actividad biológica de GLP-1 *in vitro* o *in vivo* y que comprende adicionalmente al menos un sitio de glicosilación N-enlazado.

12.- Al menos un polipéptido de mimeticuerpo suprimido CH1 de GLP-1, que comprende un polipéptido de acuerdo a la fórmula (I): (Pep(n)-L(o)-V(p)-H(q)-CH2(r)-CH3(s))(t), en donde P es al menos un péptido de GLP-1 bioactivo, de SEQ ID NO: 6, L es al menos una secuencia enlazadora, que puede ser un polipéptido que provee flexibilidad estructural al permitir que el mimeticuerpo tenga orientaciones alternas y propiedades de unión, V es al menos una porción de una C-terminal de una región variable de inmunoglobulina, H es al menos una porción de una región de bisagra variable de inmunoglobulina, CH2 es al menos una porción de una región constante CH2 de inmunoglobulina, CH3 es al menos una porción de una región constante CH3 de inmunoglobulina, n es un número entero de 1 a 10, y o, p, q, r, s y t pueden ser independientemente un número entero de 0 a 10, en donde dicho mimeticuerpo suprimido CH1 de GLP-1 tiene al menos una actividad biológica de GLP-1 *in vitro* o *in vivo* y que comprende adicionalmente al menos un sitio de glicosilación N-enlazado.

13.- Al menos un polipéptido de mimeticuerpo suprimido CH1 de GLP-1, que comprende un polipéptido de acuerdo a la fórmula (I): (Pep(n)-

L(o)-V(p)-H(q)-CH2(r)-CH3(s))(t), en donde P es al menos un péptido de GLP-1 bioactivo, variante o derivado, L se selecciona de GS, GGS, GGGS (SEQ ID NO:16), GSGGGS (SEQ ID NO:17), GGSGGGS (SEQ ID NO:18), GGSGGGSGG (SEQ ID NO:19) y GGGSGGGSGG (SEQ ID NO:20); V es al menos una porción de una C-terminal de una región variable de inmunoglobulina, H es al menos una porción de una región de bisagra variable de inmunoglobulina, CH2 es al menos una porción de una región constante CH2 de inmunoglobulina, CH3 es al menos una porción de una región constante CH3 de inmunoglobulina, n es un número entero de 1 a 10, y o, p, q, r, s y t pueden ser independientemente un número entero de 0 a 10, en donde dicho mimeticuerpo suprimido CH1 de GLP-1 tiene al menos una actividad biológica de GLP-1 *in vitro* o *in vivo* y que comprende adicionalmente al menos un sitio de glicosilación N-enlazado.

14.- Al menos un polipéptido de mimeticuerpo suprimido CH1 de GLP-1, que comprende un polipéptido de acuerdo a la fórmula (I): (Pep(n)-L(o)-V(p)-H(q)-CH2(r)-CH3(s))(t), en donde P es al menos un péptido de GLP-1 bioactivo, variante o derivado, L es al menos una secuencia enlazadora, que puede ser un polipéptido que provee flexibilidad estructural al permitir que el mimeticuerpo tenga orientaciones alternas y propiedades de unión; V se selecciona de GTLVTVSS (SEQ ID NO:21), GTLVAVSS (SEQ ID NO:22), GTAVTVSS (SEQ ID NO:23), TVSS (SEQ ID NO:24), y AVSS (SEQ ID NO:25); H es al menos una porción de una región de bisagra variable de inmunoglobulina, CH2 es al menos una porción de una región constante CH2

de inmunoglobulina, CH3 es al menos una porción de una región constante CH3 de inmunoglobulina, n es un número entero de 1 a 10, y o, p, q, r, s y t pueden ser independientemente un número entero de 0 a 10, en donde dicho mimeticuerpo suprimido CH1 de GLP-1 tiene al menos una actividad biológica de GLP-1 *in vitro* o *in vivo* y que comprende adicionalmente al menos un sitio de glicosilación N-enlazado.

15.- Al menos un polipéptido de mimeticuerpo suprimido CH1 de GLP-1, que comprende un polipéptido de acuerdo a la fórmula (I): (Pep(n)-L(o)-V(p)-H(q)-CH2(r)-CH3(s))(t), en donde P es al menos un péptido de GLP-1 bioactivo, variante o derivado, L es al menos una secuencia enlazadora, que puede ser un polipéptido que provee flexibilidad estructural al permitir que el mimeticuerpo tenga orientaciones alternas y propiedades de unión; V es al menos una porción de una C-terminal de una región variable de inmunoglobulina, H se selecciona de EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGP (SEQ ID NO:26), ESKYGPPCPSCPAPEFLGGP (SEQ ID NO:27), y ESKYGPPCPPCPAPEAAGGP (SEQ ID NO:28), CH2 es al menos una porción de una región constante CH2 de inmunoglobulina, CH3 es al menos una porción de una región constante CH3 de inmunoglobulina, n es un número entero de 1 a 10, y o, p, q, r, s y t pueden ser independientemente un número entero de 0 a 10, en donde dicho mimeticuerpo suprimido CH1 de GLP-1 tiene al menos una actividad biológica de GLP-1 *in vitro* o *in vivo* y que comprende adicionalmente al menos un sitio de glicosilación N-enlazado.

16.- Al menos un polipéptido de mimeticuerpo suprimido CH1 de

GLP-1, que comprende un polipéptido de acuerdo a la fórmula (I): (Pep(n)-L(o)-V(p)-H(q)-CH2(r)-CH3(s))(t), en donde P es al menos un péptido de GLP-1 bioactivo, variante o derivado, L es al menos una secuencia enlazadora, que puede ser un polipéptido que provee flexibilidad estructural al permitir que el mimeticuerpo tenga orientaciones alternas y propiedades de unión; V es al menos una porción de una C-terminal de una región variable de inmunoglobulina, H se selecciona de EPKSADKTHTCPPCPAPEAAGGP (SEQ ID NO:29), EPKSADKTHTCPPCPAPELAGGP (SEQ ID NO:30), EPKSADKTHTCPPCPAPEALGGP (SEQ ID NO:31), EPKSADKTHTCPPCPAPELEGGP (SEQ ID NO:32), EPKSSDKTHTCPPCPAPEFLGGP (SEQ ID NO:33), EPKSADKTHACPPCPAPELLGGP (SEQ ID NO:34), EPKSADKAHTCPPCPAPELLGGP (SEQ ID NO:35), y EPKSADKTHTCPPCPAPELLGGP (SEQ ID NO:36), ADKTHTCPPCPAPELLGGP (SEQ ID NO:37), THTCPPCPAPELLGGP (SEQ ID NO:38), ESKYGPPCPSCPAPEAAGGP (SEQ ID NO:39), ESKYGPPCPPCPAPELLGGP (SEQ ID NO:40), CPPCPAPELLGGP (SEQ ID NO:41), y CPPCPAPEAAGGP (SEQ ID NO:42), CH2 es al menos una porción de una región constante CH2 de inmunoglobulina, CH3 es al menos una porción de una región constante CH3 de inmunoglobulina, n es un número entero de 1 a 10, y o, p, q, r, s y t pueden ser independientemente un número entero de 0 a 10, en donde dicho mimeticuerpo suprimido CH1 de GLP-1 tiene al menos una actividad biológica de GLP-1 *in vitro* o *in vivo* y que comprende

adicionalmente al menos un sitio de glicosilación N-enlazado.

17.- Al menos un polipéptido de mimeticuerpo suprimido CH1 de GLP-1, que comprende un polipéptido de acuerdo a la fórmula (I): (Pep(n)-L(o)-V(p)-H(q)-CH2(r)-CH3(s))(t), en donde P es al menos un péptido de GLP-1 bioactivo, variante o derivado, L es al menos una secuencia enlazadora, que puede ser un polipéptido que provee flexibilidad estructural al permitir que el mimeticuerpo tenga orientaciones alternas y propiedades de unión; V es al menos una porción de una C-terminal de una región variable de inmunoglobulina, H es al menos una porción de una región de bisagra variable de inmunoglobulina, CH2 es al menos una porción de una región constante CH2 de inmunoglobulina, CH3 es al menos una porción de una región constante CH3 de inmunoglobulina, n es un número entero de 1 a 10, y o, p, q, r, s y t pueden ser independientemente un número entero de 0 a 10, en donde dicho mimeticuerpo suprimido CH1 de GLP-1 tiene al menos una actividad biológica de GLP-1 *in vitro* o *in vivo* y que comprende adicionalmente al menos un sitio de glicosilación N-enlazado.

18.- El ácido nucleico de mimeticuerpo suprimido CH1 de GLP-1 o polipéptido de mimeticuerpo suprimido CH1 de GLP-1 de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1-17, caracterizado además porque dicho polipéptido tiene al menos una actividad de al menos un polipéptido P.

19.- Un anticuerpo monoclonal o policlonal anti-idiotipo, proteína de fusión, o fragmento del mismo, que específicamente une al menos un polipéptido de mimeticuerpo suprimido CH1 de GLP-1 de conformidad con

cualquiera de las reivindicaciones 4-17.

20.- El ácido nucleico de mimeticuerpo suprimido CH1 de GLP-1 de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1-3 o codificación de al menos un polipéptido de mimeticuerpo suprimido CH1 de GLP-1 o anticuerpo de mimeticuerpo suprimido CH1 de GLP-1 de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 4-17, o un polinucleótido complementario a éste.

21.- Un vector de mimeticuerpo suprimido CH1 de GLP-1 que comprende al menos un ácido nucleico aislado de conformidad con la reivindicación 20.

22.- Una célula hospedera de mimeticuerpo suprimido CH1 de GLP-1 que comprende un ácido nucleico aislado de conformidad con la reivindicación 20.

23.- La célula hospedera de mimeticuerpo suprimido CH1 de GLP-1 de conformidad con la reivindicación 21, caracterizada además porque dicha célula hospedera es al menos una seleccionada de COS-1, COS-7, HEK293, BHK21, CHO, BSC-1, Hep G2, 653, SP2/0, 293, NSO, DG44CHO, CHOK1, HeLa, mieloma o células de linfoma, o cualquier derivado, célula inmortalizada o transformada de las mismas.

24.- Un método para la producción de al menos un polipéptido de mimeticuerpo suprimido CH1 de GLP-1 o anticuerpo de mimeticuerpo suprimido CH1 de GLP-1, que comprende la traducción de un ácido nucleico de conformidad con la reivindicación 20 bajo condiciones *in vitro, in vivo* o *in situ*, de tal manera que el mimeticuerpo o anticuerpo suprimido CH1 de GLP-1

se expresa en cantidades detectables o recuperables.

25.- Una composición que comprende al menos un ácido nucleico de mimeticuerpo suprimido CH1 de GLP-1, polipéptido de mimeticuerpo suprimido CH1 de GLP-1, o anticuerpo de mimeticuerpo suprimido CH1 de GLP-1 de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1-20.

26.- La composición de conformidad con la reivindicación 25, caracterizada además porque dicha composición comprende adicionalmente al menos un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable.

27.- La composición de conformidad con la reivindicación 25, caracterizada además porque comprende adicionalmente al menos una composición que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de al menos un compuesto, composición o polipéptido seleccionado de al menos uno de un fármaco relacionado con la diabetes o metabolismo de insulina, una etiqueta o reportero detectable, un antagonista de TNF, un fármaco anti-infeccioso, un fármaco del sistema cardiovascular (CV), un fármaco del sistema nervioso central (CNS), un fármaco del sistema nervioso autonómico (ANNS), un fármaco del tracto respiratorio, un fármaco del tracto gastrointestinal (GI), un fármaco hormonal, un fármaco para el balance de fluido o electrolito, un fármaco hematológico, un fármaco anti-neopláctico, un fármaco de inmunomodulación, un fármaco oftálmico, ótico o nasal, un fármaco tópico, un fármaco nutricional, una citiocina o un antagonista de citocina.

28.- La composición de conformidad con la reivindicación 25, caracterizada además porque está en una forma de al menos una seleccionada de un líquido, gas, o seca, solución, mezcla suspensión, emulsión o coloide, una preparación liofilizada, o un polvo.

29.- Un método de diagnostico o tratamiento de una condición relacionada con GLP-1 en una célula, tejido, órgano o animal, que comprende: (a) poner en contacto o administrar una composición que comprende una cantidad efectiva de al menos un ácido nucleico, polipéptido o anticuerpo de mimeticuerpo suprimido de CH1 de GLP-1 de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1-19, con, o para, dicha célula, tejido, órgano o animal.

30.- El método de conformidad con la reivindicación 29, caracterizado además porque la condición relacionada con GLP-1 es diabetes o deficiencia cardiaca congestiva.

31.- El método de conformidad con la reivindicación 29, caracterizado además porque la cantidad efectiva es 0.0001-50 mg de anticuerpo de mimeticuerpo suprimido de CH1 de GLP-1; 0.1-500 mg de dicho mimeticuerpo suprimido de CH1 de GLP-1; o 0.0001-100 μg de dicho ácido nucleico de mimeticuerpo suprimido de de CH1 de GLP-1 por kilogramo de dichas células, tejido, órgano o animal.

32.- El método de conformidad con la reivindicación 29, caracterizado además porque dicho contacto o dicha administración es por al menos un modo seleccionado de parenteral, subcutáneo, intramuscular, intravenoso, intrarticular, intrabronqueal, intraabdominal, intracapsular,

intracartilaginoso, intracavitario, intracelial, intracelebelar, intracerebroventricular, intracólico, intracervical, intragástrico, intrahepático, intramiocardial, intraosteal, intrapélvico, intrapericardiaco, intraperitoneal, intrapleural, intraprostático, intrapulmonar, intrarrectal, intrarrenal, intrarretinal, intraespinal, intrasinovial, intratorácico, intrauterino, intravesical, intralesional, bolo, vaginal, rectal, bucal, sublingual, intranasal, o transdérmico.

33.- El método de conformidad con la reivindicación 29, caracterizado además porque comprende adicionalmente la administración, antes, concurrentemente o después dicho (a) contacto o administración, al menos una composición que comprende una cantidad efectiva de al menos un compuesto o polipéptido seleccionado de al menos uno de un fármaco relacionado con la diabetes o metabolismo de insulina, una etiqueta o reportero detectable, un antagonista de TNF, un fármaco anti-infeccioso, un fármaco del sistema cardiovascular (CV), un fármaco del sistema nervioso central (CNS), un fármaco del sistema nervioso autonómico (ANNS), un fármaco del tracto respiratorio, un fármaco del tracto gastrointestinal (GI), un fármaco hormonal, un fármaco para el balance de fluido o electrolito, un fármaco hematológico, un fármaco anti-neopláctico, un fármaco de inmunomodulación, un fármaco oftálmico, ótico o nasal, un fármaco tópico, un fármaco nutricional, una citiocina o un antagonista de citocina.

34.- Un dispositivo médico, que comprende al menos un polipéptido, anticuerpo o ácido nucleico de mimeticuerpo suprimido de CH1 de GLP-1 aislado de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1-20, en

donde el dispositivo es adecuado para contactar o administrar al menos uno de dicho polipéptido, anticuerpo o ácido nucleico de mimeticuerpo suprimido de CH1 de GLP-1, por al menos un modo seleccionado de parenteral, subcutáneo, intramuscular, intravenoso, intrarticular, intrabronquial, intra-abdominal, intracapsular, intracartilaginoso, intracavitario, intracelial, intracelebelar, intracerebroventricular, intracólico, intracervical, intragástrico, intrahepático, intramiocardial, intraosteal, intrapélvico, intrapericardiaco, intraperitoneal, intrapleural, intraprostático, intrapulmonar, intrarrectal, intrarrenal, intrarretinal, intraespinal, intrasinovial, intratorácico, intrauterino, intravesical, intralesional, bolo, vaginal, rectal, bucal, sublingual, intranasal, o transdérmico.

35.- Un artículo de elaboración para el uso farmacéutico o diagnóstico de humano, que comprende material de envasado y un contenedor que comprende al menos un polipéptido, anticuerpo o ácido nucleico de mimeticuerpo suprimido de CH1 de GLP-1 de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1-20.

36.- El articulo de elaboración de conformidad con la reivindicación 35, caracterizado además porque dicho contenedor es un componente de un dispositivo o sistema de suministro parenteral, subcutáneo, intramuscular, intravenoso, intrarticular, intrabronquial, intra-abdominal, intracapsular, intracartilaginoso, intracavitario, intracelial, intracelebelar, intracerebroventricular, intracólico, intracervical, intragástrico, intrahepático, intramiocardial, intraosteal, intrapélvico, intrapericardiaco, intraperitoneal,

intrapleural, intraprostático, intrapulmonar, intrarrectal, intrarrenal, intrarretinal, intraespinal, intrasinovial, intratorácico, intrauterino, intravesical, intralesional, bolo, vaginal, rectal, bucal, sublingual, intranasal, o transdérmico.

37.- Un método para producir al menos un polipéptido de mimeticuerpo suprimido de CH1 de GLP-1, anticuerpo o ácido nucleico de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1-20, que comprende proveer al menos una célula huésped, animal transgénico, planta transgénica célula de planta capaz de expresar en cantidades detectables o recuperables dicho polipéptido, anticuerpo o ácido nucleico.

38.- Al menos un polipéptido, anticuerpo o ácido nucleico de mimeticuerpo suprimido de CH1 de GLP-1, producido por el método de conformidad con la reivindicación 37.

LISTA DE SECUENCIAS

<110> O'Neil, Karyn; Picha, Kristen

<120> MIMETICUERPOS DE PEPTIDO-1 SIMILAR A GLUCAGON DE HUMANO, COMPOSICIONES, METODOS Y USOS

<130> CEN{ INSERTAR

<140>
<141>

<160> 68

<210> 1
<211> 31
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (2)..(2)
<223> Xaa is Ala, Gly, Ser, Thr, Leu, Ile, Val, Glu, Asp or Lys.

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (3)..(3)
<223> Xaa is Glu, Asp or Lys.

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (5)..(5)
<223> Xaa is Ala, Gly, Ser, Thr, Leu, Ile, Val, Arg, His, Glu, Asp or Lys.

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (6)..(6)
<223> Xaa is Phe, His, Trp or Tyr.

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (7)..(7)
<223> Xaa is Thr or Asn.

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (8)..(8)
<223> Xaa is Ala, Gly, Ser, Thr, Leu, Ile, Val, Glu, Asp or Lys.

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (9)..(9)
<223> Xaa is Glu or Asp.

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (10)..(10)
<223> Xaa is Val, Gln, His, Glu, or Lys.

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (11)..(11)

<223> Xaa is Ala, Gly, Ser, Thr, Leu, Ile, Val, Glu, Asp or Lys.

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (12)..(12)
<223> Xaa is Ala, Gly, Ser, Thr, Leu, Ile, Val, Glu, Asp or Lys.

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (13)..(13)
<223> Xaa is Tyr, Gln, His, Glu, or Lys.

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (14)..(14)
<223> Xaa is Leu, Gln, His, Glu, or Lys.

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (15)..(15)
<223> Xaa is Ala, Gly, Ser, Gln, Glu, Asp or Lys.

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (16)..(16)
<223> Xaa is Ala, Gly, Ser, Thr, Leu, Ile, Val, Gln, Asn, Arg, Cys, Glu, Asp or Lys.

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (17)..(17)
<223> Xaa is Gln, Asn, Arg, His, Glu, Asp or Lys.

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (18)..(18)
<223> Xaa is Ala, Gly, Ser, Thr, Leu, Ile, Val, Glu, Asp or Lys.

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (19)..(19)
<223> Xaa is Ala, Gly, Ser, Thr, Leu, Ile, Val, Glu, Asp or Lys.

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (20)..(20)
<223> Xaa is Lys, Arg, His, Gln, Trp, Tyr, Phe, Glu, or Asp.

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (21)..(21)
<223> Xaa is Glu, Leu, Ala, His, Phe, Tyr, Trp, Arg, Gln, Thr, Ser, Gly, Asp or Lys.

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (23)..(23)
<223> Xaa is Ala, Val, Leu, or Glu.

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA

<222> (24)..(24)
<223> Xaa is Ala, Gln, His, Glu, or Lys.

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (25)..(25)
<223> Xaa is Trp, Phe, Tyr, Glu, Asp or Lys.

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (26)..(26)
<223> Xaa is Leu, Gly, Ala, Ser, Thr, Ile, Val, Glu, Asp, or Lys.

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (27)..(27)
<223> Xaa is Val, Gln, His, Glu, or Lys.

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (28)..(28)
<223> Xaa is Lys, Asn, Arg, His, Glu, or Asp.

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (29)..(29)
<223> Xaa is Gly, Ala, Ser, Thr, Leu, Ile, Val, Arg, Trp, Tyr, Phe, Pro, His, Glu, Asp or Lys.

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (30)..(30)
<223> Xaa is Arg, His, Thr, Ser, Trp, Tyr, Phe, Glu, Asp or Lys.

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (31)..(31)
<223> Xaa is Gly, Ala, Ser, Thr, Leu, Ile, Val, Arg, Trp, Tyr, Phe, Pro, His, Glu, Asp or Lys.

<400> 1

```
His Xaa Xaa Gly Thr Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Ser Xaa Tyr Xaa Glu Xaa
1               5                  10                  15

Xaa Xaa Xaa Lys Xaa Phe Xaa Ala Trp Leu Xaa Xaa Gly Xaa Xaa
            20                  25                  30
```

<210> 2
<211> 278
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (10)..(10)
<223> Xaa is Gln, Glu, Lys, His or Ala.

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (13)..(13)

<223> Xaa is Gln, Glu, Lys, His or Ala.

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (14)..(14)
<223> Xaa is Gln, Glu, Lys, His or Ala.

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (24)..(24)
<223> Xaa is Gln, Glu, Lys, or Ala.

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (27)..(27)
<223> Xaa is Gln, Glu, Lys, His or Ala.

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (44)..(44)
<223> Xaa is Asn or Gln.

<400> 2

His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Xaa Ser Xaa Xaa Leu Glu Gly
1 5 10 15

Gln Ala Xaa Lys Glu Phe Ile Xaa Trp Leu Xaa Lys Gly Arg Gly Gly
20 25 30

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Thr Leu Val Thr Xaa Ser Ser Glu Pro
35 40 45

Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
50 55 60

Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
65 70 75 80

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
85 90 95

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

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
115 120 125

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
130 135 140

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
145 150 155 160

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
165 170 175

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

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile

195 200 205

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
210 215 220

Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
225 230 235 240

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
245 250 255

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
260 265 270

Ser Leu Ser Pro Gly Lys
275

<210> 3
<211> 837
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (28)..(30)
<223> nnn es cualquier codón que codifica Gln, Glu, Lys, His or Ala.

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (37)..(39)
<223> nnn es cualquier codón que codifica Gln, Glu, Lys, His or Ala.

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (40)..(42)
<223> nnn es cualquier codón que codifica Gln, Glu, Lys, His or Ala.

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (70)..(72)
<223> nnn es cualquier codón que codifica Gln, Glu, Lys, His or Ala.

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (79)..(81)
<223> nnn es cualquier codón que codifica Gln, Glu, Lys, His or Ala.

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (130)..(132)
<223> nnn es cualquier codón que codifica Asn or Gln.

<400> 3

catgctgaag ggacctttac tagtgatnnn agttctnnnn nngaaggcca agctgccaag 60
gaattcattn nntggctgnn naaaggccga ggaggtggat ccggtggagg ctccggtacc 120
ttagtcaccn nntcctcaga gcccaaatct tgtgacaaaa ctcacacgtg cccaccgtgc 180
ccagcacctg aactcctggg gggaccgtca gtcttcctct tccccccaaa acccaaggac 240
accctcatga tctcccggac ccctgaggtc acatgcgtgg tggtggacgt gagccacgaa 300
gaccctgagg tcaagttcaa ctggtacgtg gacggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca 360

aagccgcggg aggagcagta caacagcacg taccgggtgg tcagcgtcct caccgtcctg 420
caccaggact ggctgaatgg caaggagtac aagtgcaagg tctccaacaa agccctccca 480
gcccccatcg agaaaaccat ctccaaagcc aaagggcagc cccgagaacc acaggtgtac 540
accctgcccc catcccggga tgagctgacc aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggtc 600
aaaggcttct atcccagcga catcgccgtg gagtgggaga gcaatgggca gccggagaac 660
aactacaaga ccacgcctcc cgtgctggac tccgacggct ccttcttcct ctacagcaag 720
ctcaccgtgg acaagagcag gtggcagcag gggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat 780
gaggctctgc acaaccacta cacgcagaag agcctctccc tgtctccggg taaatga 837

<210> 4
<211> 275
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 4

His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Gly
1 5 10 15

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Glu Trp Leu Val Lys Gly Arg Gly Gly
20 25 30

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Thr Leu Val Thr Asn Ser Ser Glu Ser
35 40 45

Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly
50 55 60

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
65 70 75 80

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln
85 90 95

Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
100 105 110

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr
115 120 125

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
130 135 140

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile
145 150 155 160

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

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
180 185 190

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
195 200 205

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
210 215 220

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val

225 230 235 240

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
245 250 255

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
260 265 270

Leu Gly Lys
275

210> 4
<211> 275
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 4

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

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Glu Trp Leu Val Lys Gly Arg Gly Gly
20 25 30

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Thr Leu Val Thr Asn Ser Ser Glu Ser
35 40 45

Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly
50 55 60

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
65 70 75 80

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln
85 90 95

Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
100 105 110

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr
115 120 125

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
130 135 140

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile
145 150 155 160

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

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
180 185 190

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
195 200 205

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
210 215 220

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val

225 230 235 240

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
245 250 255

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
260 265 270

Leu Gly Lys
275

210> 4a
<211> 275
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 4a

His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Gly
1 5 10 15

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Arg Gly Gly
20 25 30

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Glu Ser
35 40 45

Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly
50 55 60

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
65 70 75 80

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln
85 90 95

Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
100 105 110

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr
115 120 125

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
130 135 140

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile
145 150 155 160

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

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
180 185 190

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
195 200 205

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
210 215 220

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val
225 230 235 240

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
245 250 255

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
260 265 270

Leu Gly Lys
275

210> 4b
<211> 275
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 4b

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

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Arg Gly Gly
20 25 30

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Glu Ser
35 40 45

Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly
50 55 60

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
65 70 75 80

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln
85 90 95

Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
100 105 110

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr
115 120 125

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
130 135 140

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile
145 150 155 160

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

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
180 185 190

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
195 200 205

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
210 215 220

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val
225 230 235 240

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
245 250 255

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
260 265 270

Leu Gly Lys
275

210> 4c
<211> 275
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 4c

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

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Arg Gly Gly
20 25 30

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Glu Ser
35 40 45

Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly
50 55 60

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
65 70 75 80

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln
85 90 95

Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
100 105 110

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr
115 120 125

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
130 135 140

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile
145 150 155 160

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

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
180 185 190

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
195 200 205

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
210 215 220

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val
225 230 235 240

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
245 250 255

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
260 265 270

Leu Gly Lys
275

210> 4d
<211> 284
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 4d

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

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Gly Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly
35 40 45

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro
50 55 60

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
65 70 75 80

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
85 90 95

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe
100 105 110

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
115 120 125

Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
130 135 140

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
145 150 155 160

Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
165 170 175

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln
180 185 190

Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly

195 200 205

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
210 215 220

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
225 230 235 240

Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu
245 250 255

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
260 265 270

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
275 280 284

<210> 5
<211> 828
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 5

catgctgaag ggacctttac tagtgatgta agttcttatt tggaaggcca agctgccaag 60
gaattcattg aatggctggt gaaaggccga ggaggtggat ccggtggagg ctccggtacc 120
ttagtcacca actcctcaga gtccaaatat ggtcccccat gcccaccatg cccggcgcct 180
gaggccgccg ggggaccatc agtcttcctg ttcccccaa aacccaagga cactctcatg 240
atctcccgga cccctgaggt cacgtgcgtg gtggtggacg tgagccagga agaccccgag 300
gtccagttca actggtacgt ggatggcgtg gaggtgcata atgccaagac aaagccgcgg 360
gaggagcagt tcaacagcac gtaccgtgtg gtcagcgtcc tcaccgtcct gcaccaggac 420
tggctgaacg gcaaggagta caagtgcaag gtctccaaca aaggcctccc gtcctccatc 480
gagaaaacca tctccaaagc caaagggcag cctcgagagc cacaggtgta caccctgccc 540
ccatcccagg aggagatgac caagaaccag gtcagcctga cctgcctggt caaaggcttc 600
taccccagcg acatcgccgt ggagtgggag agcaatgggc agccggagaa caactacaag 660
accacgcctc ccgtgctgga ctccgacggc tccttcttcc tctacagcag gctaaccgtg 720
gacaagagca ggtggcagga ggggaatgtc ttctcatgct ccgtgatgca tgaggctctg 780
cacaaccact acacacagaa aagcttgtcc ctgtctctgg gtaaatga 828

<210> 6
<211> 30
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (2)..(2)
<223> Xaa is Ala, Gly, Ser.

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (3)..(3)
<223> Xaa is Glu, Asp.

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (6)..(6)
<223> Xaa is Phe, His, Trp or Tyr.

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (7)..(7)
<223> Xaa is Thr or Asn.

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (8)..(8)
<223> Xaa is Ala, Ser, Thr.

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (9)..(9)
<223> Xaa is Glu or Asp.

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (10)..(10)
<223> Xaa is Val, Gln, His, Glu, or Lys.

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (12)..(12)
<223> Xaa is Ser or Lys.

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (13)..(13)
<223> Xaa is Tyr, Gln, His, Glu, or Lys.

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (14)..(14)
<223> Xaa is Leu, Gln, His, Glu, or Lys.

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (16)..(16)
<223> Xaa is Gly, Ala, Glu, or Asp.

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (17)..(17)
<223> Xaa is Gln, or Glu.

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (18)..(18)
<223> Xaa is Ala or Lys.

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (19)..(19)
<223> Xaa is Ala, Leu, Ile, Val, or Met.

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (21)..(21)
<223> Xaa is Glu or Leu.

<220>

<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (23)..(23)
<223> Xaa is Ala, Val, Ile, Leu, or Glu.

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (24)..(24)
<223> Xaa is Ala, Gln, His, Glu, or Lys.

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (27)..(27)
<223> Xaa is Val, Gln, His, Glu, or Lys.

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (28)..(28)
<223> Xaa is Lys or Asn.

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (30)..(30)
<223> Xaa is Arg or Glu.

<400> 6

His Xaa Xaa Gly Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Ser Xaa Xaa Xaa Glu Xaa
1 5 10 15

Xaa Xaa Xaa Lys Xaa Phe Xaa Xaa Trp Leu Xaa Xaa Gly Xaa
20 25 30

<210> 7
<211> 63
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 7
His Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Gly
1 5 10 15

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Glu Trp Leu Val Lys Gly Arg Gly Gly
20 25 30

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Thr Leu Val Thr Asn Ser Ser Glu Ser
35 40 45

Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala
50 55 60

<210> 8
<211> 63
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 8

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

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Glu Trp Leu Val Lys Gly Arg Gly Gly
20 25 30

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Thr Leu Val Thr Asn Ser Ser Glu Ser
35 40 45

Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala
50 55 60

<210> 9
<211> 63
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 9
His Asp Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Gly
1 5 10 15

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Glu Trp Leu Val Lys Gly Arg Gly Gly
20 25 30

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Thr Leu Val Thr Asn Ser Ser Glu Ser
35 40 45

Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala
50 55 60

<210> 10
<211> 63
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 10
His Thr Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Gly
1 5 10 15

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Glu Trp Leu Val Lys Gly Arg Gly Gly
20 25 30

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Thr Leu Val Thr Asn Ser Ser Glu Ser
35 40 45

Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala
50 55 60

<210> 11
<211> 63
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 11
His Val Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Gly

1 5 10 15

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Glu Trp Leu Val Lys Gly Arg Gly Gly
20 25 30

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Thr Leu Val Thr Asn Ser Ser Glu Ser
35 40 45

Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala
50 55 60

<210> 12
<211> 52
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 12
His Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Gly
1 5 10 15

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Glu Trp Leu Val Lys Gly Arg Thr Gly
20 25 30

Gly Gly Ser Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala
35 40 45

Pro Glu Ala Ala
50

<210> 13
<211> 43
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 13
His Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Gly
1 5 10 15

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Glu Trp Leu Val Lys Gly Arg Thr Gly
20 25 30

Ser Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Asn
35 40

<210> 14
<211> 72
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 14
His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Gly
1 5 10 15

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Glu Trp Leu Val Lys Gly Gly Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly
35 40 45

Thr Leu Val Thr Asn Ser Ser Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro
50 55 60

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala
65 70

<210> 15
<211> 31
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 15

His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Gly
1 5 10 15

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Glu Trp Leu Val Lys Gly Arg Gly
20 25 30

<210> 16
<211> 4
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 16
Gly Gly Gly Ser
1

<210> 17
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 17
Gly Ser Gly Gly Gly Ser
1 5

<210> 18
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 18
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
1 5

<210> 19
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 19
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
1 5

<210> 20
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 20
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
1 5 10

<210> 21
<211> 8
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 21
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
1 5

<210> 22
<211> 8
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 22
Gly Thr Leu Val Ala Val Ser Ser
1 5

<210> 23
<211> 8
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 23
Gly Thr Ala Val Thr Val Ser Ser
1 5

<210> 24
<211> 4
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 24
Thr Val Ser Ser
1

<210> 25

<211> 4
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 25
Ala Val Ser Ser
1

<210> 26
<211> 23
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 26
Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
1 5 10 15

Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
20

<210> 27
<211> 20
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 27
Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro Glu Phe
1 5 10 15

Leu Gly Gly Pro
20

<210> 28
<211> 20
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 28
Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala
1 5 10 15

Ala Gly Gly Pro
20

SEQ ID NO:29
<210> 29
<211> 23
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 29
Glu Pro Lys Ser Ala Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
1 5 10 15

Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro

20

<210> 30
<211> 23
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 30
Glu Pro Lys Ser Ala Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
1 5 10 15

Pro Glu Leu Ala Gly Gly Pro
20

<210> 31
<211> 23
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 31
Glu Pro Lys Ser Ala Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
1 5 10 15

Pro Glu Ala Leu Gly Gly Pro
20

<210> 32
<211> 23
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 32
Glu Pro Lys Ser Ala Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
1 5 10 15

Pro Glu Leu Glu Gly Gly Pro
20

<210> 33
<211> 23
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 33
Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
1 5 10 15

Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro
20

<210> 34

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

<400> 34
Glu Pro Lys Ser Ala Asp Lys Thr His Ala Cys Pro Pro Cys Pro Ala
1 5 10 15

Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
20

<210> 35
<211> 23
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 35
Glu Pro Lys Ser Ala Asp Lys Ala His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
1 5 10 15

Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
20

<210> 36
<211> 23
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 36
Glu Pro Lys Ser Ala Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
1 5 10 15

Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
20

<210> 37
<211> 19
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 37
Ala Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1 5 10 15

Gly Gly Pro

<210> 38
<211> 16
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 38
Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro

1 5 10 15

<210> 39
<211> 20
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 39
Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro Glu Ala
1 5 10 15

Ala Gly Gly Pro
20

<210> 40
<211> 20
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 40
Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu
1 5 10 15

Leu Gly Gly Pro
20

<210> 41
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 41
Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
1 5 10

<210> 42
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 42
Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro
1 5 10

<210> 43
<211> 102
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 43
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser

1 5 10 15

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

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

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

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

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

Thr Ile Ser Lys Ala Lys
100

<210> 44
<211> 106
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 44
Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp
1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

<210> 45
<211> 102
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 45
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
1 5 10 15

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

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

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

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

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

Thr Ile Ser Lys Ala Lys
100

<210> 46
<211> 107
<212> PRT
<213> Homo sapiens

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

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

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

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

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

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

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

<210> 47
<211> 125
<212> PRT
<213> Homo sapiens

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

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (1)..(31)
<223> armazón 1

<220>

<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (32)..(32)
<223> X es cualquier amino ácido

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (33)..(46)
<223> armazón 2

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (47)..(47)
<223> X es cualquier amino ácido

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (48)..(79)
<223> armazón 3

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (80)..(80)
<223> X es cualquier amino ácido

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (81)..(125)
<223> armazón 4

<400> 47

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 48
<211> 124
<212> PRT
<213> Homo sapiens

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

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (1)..(30)
<223> armazón 1

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (31)..(31)
<223> Xaa es cualquier amino ácido

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (32)..(45)
<223> armazón 2

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (46)..(46)
<223> Xaa es cualquier amino ácido

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (47)..(78)
<223> armazón 3

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (79)..(79)
<223> Xaa es cualquier amino ácido

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (80)..(124)
<223> armazón 4

<400> 48

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 49
<211> 100
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (1)..(100)
<223> Vh3a región variable de cadena pesada

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (1)..(31)
<223> armazón 1

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (32)..(32)
<223> complementariamente determinando la región 1 (CDR1), Xaa es cualquier amino ácido

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (33)..(46)
<223> armazón 2

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (47)..(47)
<223> complementariamente determinando la región 2 (CDR2), Xaa is 10-30 (18) cualquier amino ácido

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (48)..(79)
<223> armazón 3

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (80)..(80)

<223> complementariamente determinando la región 3 (CDR3), Xaa is 20-40 (31) cualquier amino ácido

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (81)..(100)
<223> armazón 4

<400> 49

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

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

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

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

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

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

Pro Ser Val Phe
100

<210> 50
<211> 102
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (1)..(102)
<223> Vh3b región variable de cadena pesada

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (1)..(30)
<223> armazón 1

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (31)..(31)
<223> complementariamente determinando la región 1 (CDR1), Xaa is 3-20 (5) cualquier amino ácido

<220>

<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (32)..(45)
<223> armazón 2

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (46)..(46)
<223> complementariamente determinando la región 2 (CDR2), Xaa is 5-25 (11) cualquier amino ácido

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (47)..(78)
<223> armazón 3

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (79)..(79)
<223> complementariamente determinando la región 3 (CDR3), Xaa is 15-40 (23) cualquier amino ácido

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (80)..(102)
<223> armazón 4

<400> 50

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

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

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

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

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

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

Ser Val Phe Pro Leu Ala
100

<210> 51
<211> 101
<212> PRT
<213> Homo sapiens

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

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (1)..(30)
<223> armazón 1

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (31)..(31)
<223> complementariamente determinando la región 1 (CDR1), Xaa is 3-20 (5) cualquier amino ácido

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (32)..(45)
<223> armazón 2

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (46)..(46)
<223> complementariamente determinando la región 2 (CDR2), Xaa is 10-30 (19) cualquier amino ácido

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (47)..(79)
<223> armazón 3

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (80)..(80)
<223> complementariamente determinando la región 3 (CDR3), Xaa is 15-40 (25) cualquier amino ácido

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (81)..(101)
<223> armazón 4

<400> 51

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

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

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

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

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

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

Pro Ser Val Leu Pro
100

<210> 52
<211> 108
<212> PRT
<213> Homo sapiens

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

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (1)..(33)
<223> armazón 1

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (34)..(34)
<223> complementariamente determinando la región 1 (CDR1), Xaa is 3-20 (7) cualquier amino ácido

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (35)..(48)
<223> armazón 2

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (49)..(49)
<223> complementariamente determinando la región 2 (CDR2), Xaa is 10-30 (16) cualquier amino ácido

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (50)..(81)
<223> armazón 3

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (82)..(82)
<223> complementariamente determinando la región 3 (CDR3), Xaa is 20-45 (32) cualquier amino ácido

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (83)..(108)
<223> armazón 4

<400> 52

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

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

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

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

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

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

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

<210> 53
<211> 132
<212> PRT
<213> Homo sapiens

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

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (1)..(31)
<223> MISC_CARACTERISTICA

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (32)..(32)
<223> complementariamente determinando la región 1 (CDR1), Xaa is 3-20 (5) cualquier amino ácido

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (33)..(46)
<223> armazón 2

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (47)..(47)

<223> complementariamente determinando la región 2 (CDR2), Xaa is 10-30 (17) cualquier amino ácido

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (48)..(79)
<223> armazón 3

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (80)..(80)
<223> complementariamente determinando la región 3 (CDR3), Xaa is 15-40 (23) cualquier amino ácido

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (81)..(132)
<223> armazón 4

<400> 53

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

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

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

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

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

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

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

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

Ile Thr Phe Ser
130

<210> 54
<211> 125
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (1)..(125)
<223> Vh6 región variable de cadena pesada

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (1)..(30)
<223> armazón 1

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (31)..(31)
<223> complementariamente determinando la región 1 (CDR1), Xaa is 3-20 (7) cualquier amino ácido

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (32)..(45)
<223> armazón 2

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (46)..(46)
<223> complementariamente determinando la región 2 (CDR2), Xaa is 10-30 (18) cualquier amino ácido

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (47)..(78)
<223> armazón 3

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (79)..(79)
<223> complementariamente determinando la región 3 (CDR3), Xaa is 5-30 (13) cualquier amino ácido

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (80)..(125)
<223> armazón 4

<400> 54

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 55
<211> 91
<212> PRT
<213> Homo sapiens

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

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (1)..(30)
<223> armazón 1

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (31)..(31)
<223> complementariamente determinando la región 1 (CDR1), Xaa is 3-20 (5) cualquier amino ácido

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (32)..(45)
<223> armazón 2

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (46)..(46)
<223> complementariamente determinando la región 2 (CDR2), Xaa is 10-30 (17) cualquier amino ácido

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (47)..(78)
<223> armazón 3

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (79)..(79)
<223> complementariamente determinando la región 3 (CDR3), Xaa is 5-30 (13) cualquier amino ácido

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (80)..(91)
<223> armazón 4

<400> 55

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

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

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

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

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

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

<210> 56
<211> 354
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (1)..(354)
<223> IgA1 región constante de cadena pesada

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (1)..(102)
<223> CH1

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (103)..(121)
<223> bisagra

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (122)..(222)
<223> CH2

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (223)..(354)

<223> CH3

<400> 56

```
Ala Ser Pro Thr Ser Pro Lys Val Phe Pro Leu Ser Leu Cys Ser Thr
1               5                  10                  15

Gln Pro Asp Gly Asn Val Val Ile Ala Cys Leu Val Gln Gly Phe Phe
            20                  25                  30

Pro Gln Glu Pro Leu Ser Val Thr Trp Ser Glu Ser Gly Gln Gly Val
        35                  40                  45

Thr Ala Arg Asn Phe Pro Pro Ser Gln Asp Ala Ser Gly Asp Leu Tyr
    50                  55                  60

Thr Thr Ser Ser Gln Leu Thr Leu Pro Ala Thr Gln Cys Leu Ala Gly
65                  70                  75                  80

Lys Ser Val Thr Cys His Val Lys His Tyr Thr Asn Pro Ser Gln Asp
                85                  90                  95

Val Thr Val Pro Cys Pro Asn Pro Ser Thr Pro Pro Thr Pro Ser Pro
            100                 105                 110

Ser Thr Pro Pro Thr Pro Ser Pro Ser Cys Cys His Pro Arg Leu Ser
        115                 120                 125

Leu His Arg Pro Ala Leu Glu Asp Leu Leu Leu Gly Ser Glu Ala Asn
    130                 135                 140

Leu Thr Cys Thr Leu Thr Gly Leu Arg Asp Ala Ser Gly Val Thr Phe
145                 150                 155                 160

Thr Trp Thr Pro Ser Ser Gly Lys Ser Ala Val Gln Gly Pro Pro Glu
                165                 170                 175

Arg Asp Leu Cys Gly Cys Tyr Ser Asn Ser Ser Val Leu Pro Gly Cys
            180                 185                 190

Ala Glu Pro Trp Asn His Gly Lys Thr Phe Thr Cys Thr Ala Ala Tyr
        195                 200                 205

Pro Glu Ser Lys Thr Pro Leu Thr Ala Thr Leu Ser Lys Ser Gly Asn
    210                 215                 220

Thr Phe Arg Pro Glu Val His Leu Leu Pro Pro Pro Ser Glx Glu Glu
```

225 230 235 240

Leu Ala Leu Asn Glu Leu Val Thr Leu Thr Cys Leu Ala Arg Gly Phe
245 250 255

Ser Pro Lys Asp Val Leu Val Arg Trp Leu Gln Gly Ser Gln Glu Leu
260 265 270

Pro Arg Glu Lys Tyr Leu Thr Trp Ala Ser Arg Gln Glu Pro Ser Gln
275 280 285

Gly Thr Thr Thr Phe Ala Val Thr Ser Ile Leu Arg Val Ala Ala Glu
290 295 300

Asp Trp Lys Lys Gly Asp Thr Phe Ser Cys Met Val Gly His Glu Ala
305 310 315 320

Leu Pro Leu Ala Phe Thr Gln Lys Thr Ile Asp Arg Leu Ala Gly Lys
325 330 335

Pro Thr His Val Asn Val Ser Val Val Met Ala Glu Val Asp Gly Thr
340 345 350

Cys Tyr

<210> 57
<211> 340
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (1)..(340)
<223> IgA2 región constante de cadena pesada

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (1)..(102)
<223> CH1

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (103)..(108)
<223> bisagra

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (109)..(209)
<223> CH2

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (210)..(340)
<223> CH3

<400> 57

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

Pro Gln Asp Gly Asn Val Val Val Ala Cys Leu Val Gln Gly Phe Phe
20 25 30

Pro Gln Glu Pro Leu Ser Val Thr Trp Ser Glu Ser Gly Gln Asn Val
35 40 45

Thr Ala Arg Asn Phe Pro Pro Ser Gln Asp Ala Ser Gly Asp Leu Tyr
50 55 60

Thr Thr Ser Ser Gln Leu Thr Leu Pro Ala Thr Gln Cys Pro Asp Gly
65 70 75 80

Lys Ser Val Thr Cys His Val Lys His Tyr Thr Asn Pro Ser Gln Asp
85 90 95

Val Thr Val Pro Cys Pro Val Pro Pro Pro Pro Pro Cys Cys His Pro
100 105 110

Arg Leu Ser Leu His Arg Pro Ala Leu Glu Asp Leu Leu Leu Gly Ser
115 120 125

Glu Ala Asn Leu Thr Cys Thr Leu Thr Gly Leu Arg Asp Ala Ser Gly
130 135 140

Ala Thr Phe Thr Trp Thr Pro Ser Ser Gly Lys Ser Ala Val Gln Gly
145 150 155 160

Pro Pro Glu Arg Asp Leu Cys Gly Cys Tyr Ser Val Ser Ser Val Leu
165 170 175

Pro Gly Cys Ala Gln Pro Trp Asn His Gly Glu Thr Phe Thr Cys Thr
180 185 190

Ala Ala His Pro Glu Leu Lys Thr Pro Leu Thr Ala Asn Ile Thr Lys
195 200 205

Ser Gly Asn Thr Phe Arg Pro Glu Val His Leu Leu Pro Pro Pro Ser
210 215 220

Glu Glu Leu Ala Leu Asn Glu Leu Val Thr Leu Thr Cys Leu Ala Arg
225 230 235 240

Gly Phe Ser Pro Lys Asp Val Leu Val Arg Trp Leu Gln Gly Ser Gln
245 250 255

Glu Leu Pro Arg Glu Lys Tyr Leu Thr Trp Ala Ser Arg Gln Glu Pro
260 265 270

Ser Gln Gly Thr Thr Thr Phe Ala Val Thr Ser Ile Leu Arg Val Ala
275 280 285

Ala Glu Asp Trp Lys Lys Gly Asp Thr Phe Ser Cys Met Val Gly His
290 295 300

Glu Ala Leu Pro Leu Ala Phe Thr Gln Lys Thr Ile Asp Arg Leu Ala
305 310 315 320

Gly Lys Pro Thr His Val Asn Val Ser Val Val Met Ala Glu Val Asp
325 330 335

Gly Thr Cys Tyr
340

<210> 58
<211> 384
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (1)..(384)
<223> IgD región constante de cadena pesada

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (1)..(101)
<223> CH1

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (102)..(135)
<223> bisagra 1

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (136)..(159)
<223> bisagra 2

<220>

<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (160)..(267)
<223> CH2

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (268)..(384)
<223> CH3

<400> 58

Ala Pro Thr Lys Ala Pro Asp Val Phe Pro Ile Ile Ser Gly Cys Arg
1 5 10 15

His Pro Lys Asp Asn Ser Pro Val Val Leu Ala Cys Leu Ile Thr Gly
20 25 30

Tyr His Pro Thr Ser Val Thr Val Thr Trp Tyr Met Gly Thr Gln Ser
35 40 45

Gln Pro Gln Arg Thr Phe Pro Glu Ile Gln Arg Arg Asp Ser Tyr Tyr
50 55 60

Met Thr Ser Ser Gln Leu Ser Thr Pro Leu Gln Gln Trp Arg Gln Gly
65 70 75 80

Glu Tyr Lys Cys Val Val Gln His Thr Ala Ser Lys Ser Lys Lys Glu
85 90 95

Ile Phe Arg Trp Pro Glu Ser Pro Lys Ala Gln Ala Ser Ser Val Pro
100 105 110

Thr Ala Gln Pro Gln Ala Glu Gly Ser Leu Ala Lys Ala Thr Thr Ala
115 120 125

Pro Ala Thr Thr Arg Asn Thr Gly Arg Gly Gly Glu Glu Lys Lys Lys
130 135 140

Glu Lys Glu Lys Glu Glu Gln Glu Glu Arg Glu Thr Lys Thr Pro Glu
145 150 155 160

Cys Pro Ser His Thr Gln Pro Leu Gly Val Tyr Leu Leu Thr Pro Ala
165 170 175

Val Gln Asp Leu Trp Leu Arg Asp Lys Ala Thr Phe Thr Cys Phe Val
180 185 190

Val Gly Ser Asp Leu Lys Asp Ala His Leu Thr Trp Glu Val Ala Gly
195 200 205

Lys Val Pro Thr Gly Gly Val Glu Glu Gly Leu Leu Glu Arg His Ser
210 215 220

Asn Gly Ser Gln Ser Gln His Ser Arg Leu Thr Leu Pro Arg Ser Leu
225 230 235 240

Trp Asn Ala Gly Thr Ser Val Thr Cys Thr Leu Asn His Pro Ser Leu
245 250 255

Pro Pro Gln Arg Leu Met Ala Leu Arg Glu Pro Ala Ala Gln Ala Pro
260 265 270

Val Lys Leu Ser Leu Asn Leu Leu Ala Ser Ser Asp Pro Pro Glu Ala
275 280 285

Ala Ser Trp Leu Leu Cys Glu Val Ser Gly Phe Ser Pro Pro Asn Ile
290 295 300

Leu Leu Met Trp Leu Glu Asp Gln Arg Glu Val Asn Thr Ser Gly Phe
305 310 315 320

Ala Pro Ala Arg Pro Pro Pro Gln Pro Arg Ser Thr Thr Phe Trp Ala
325 330 335

Trp Ser Val Leu Arg Val Pro Ala Pro Pro Ser Pro Gln Pro Ala Thr
340 345 350

Tyr Thr Cys Val Val Ser His Glu Asp Ser Arg Thr Leu Leu Asn Ala
355 360 365

Ser Arg Ser Leu Glu Val Ser Tyr Val Thr Asp His Gly Pro Met Lys
370 375 380

<210> 59
<211> 497
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (1)..(497)
<223> IgE región constante de cadena pesada

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (1)..(103)
<223> CH1

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (104)..(210)
<223> CH2

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (211)..(318)
<223> CH3

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (319)..(497)
<223> CH4

<400> 59

Ala Ser Thr Gln Ser Pro Ser Val Phe Pro Leu Thr Arg Cys Cys Lys
1 5 10 15

Asn Ile Pro Ser Asn Ala Thr Ser Val Thr Leu Gly Cys Leu Ala Thr
20 25 30

Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Met Val Thr Trp Asp Thr Gly Ser Leu
35 40 45

Asn Gly Thr Thr Met Thr Leu Pro Ala Thr Thr Leu Thr Leu Ser Gly
50 55 60

His Tyr Ala Thr Ile Ser Leu Leu Thr Val Ser Gly Ala Trp Ala Lys
65 70 75 80

Gln Met Phe Thr Cys Arg Val Ala His Thr Pro Ser Ser Thr Asp Trp
85 90 95

Val Asp Asn Lys Thr Phe Ser Val Cys Ser Arg Asp Phe Thr Pro Pro
100 105 110

Thr Val Lys Ile Leu Gln Ser Ser Cys Asp Gly Gly Gly His Phe Pro
115 120 125

Pro Thr Ile Gln Leu Leu Cys Leu Val Ser Gly Tyr Thr Pro Gly Thr
130 135 140

Ile Asn Ile Thr Trp Leu Glu Asp Gly Gln Val Met Asp Val Asp Leu
145 150 155 160

Ser Thr Ala Ser Thr Thr Gln Glu Gly Glu Leu Ala Ser Thr Gln Ser
165 170 175

```
Glu Leu Thr Leu Ser Gln Lys His Trp Leu Ser Asp Arg Thr Tyr Thr
            180                 185                 190

Cys Gln Val Thr Tyr Gln Gly His Thr Phe Glu Asp Ser Thr Lys Lys
        195                 200                 205

Cys Ala Asp Ser Asn Pro Arg Gly Val Ser Ala Tyr Leu Ser Arg Pro
    210                 215                 220

Ser Pro Phe Asp Leu Phe Ile Arg Lys Ser Pro Thr Ile Thr Cys Leu
225                 230                 235                 240

Val Val Asp Leu Ala Pro Ser Lys Gly Thr Val Asn Leu Thr Trp Ser
                245                 250                 255

Arg Ala Ser Gly Lys Pro Val Asn His Ser Thr Arg Lys Glu Glu Lys
            260                 265                 270

Gln Arg Asn Gly Thr Leu Thr Val Thr Ser Thr Leu Pro Val Gly Thr
        275                 280                 285

Arg Asp Trp Ile Glu Gly Glu Thr Tyr Gln Cys Arg Val Thr His Pro
    290                 295                 300

His Leu Pro Arg Ala Leu Met Arg Ser Thr Thr Lys Thr Ser Gly Pro
305                 310                 315                 320

Val Gly Pro Arg Ala Ala Pro Glu Val Tyr Ala Phe Ala Thr Pro Glu
                325                 330                 335

Trp Pro Gly Ser Arg Asp Lys Arg Thr Leu Ala Cys Leu Ile Gln Asn
            340                 345                 350

Phe Met Pro Glu Asp Ile Ser Val Gln Trp Leu His Asn Glu Val Gln
        355                 360                 365

Leu Pro Asp Ala Arg His Ser Thr Thr Gln Pro Arg Lys Thr Lys Gly
    370                 375                 380

Ser Gly Phe Phe Val Phe Ser Arg Leu Glu Val Thr Arg Ala Glu Trp
385                 390                 395                 400

Glu Gln Lys Asp Glu Phe Ile Cys Arg Ala Val His Glu Ala Ala Ser
                405                 410                 415
```

Pro Ser Gln Thr Val Gln Arg Ala Val Ser Val Asn Pro Gly Lys Asp
420 425 430

Val Cys Val Glu Glu Ala Glu Gly Glu Ala Pro Trp Thr Trp Thr Gly
435 440 445

Leu Cys Ile Phe Ala Ala Leu Phe Leu Leu Ser Val Ser Tyr Ser Ala
450 455 460

Ala Leu Thr Leu Leu Met Val Gln Arg Phe Leu Ser Ala Thr Arg Gln
465 470 475 480

Gly Arg Pro Gln Thr Ser Leu Asp Tyr Thr Asn Val Leu Gln Pro His
485 490 495

Ala

<210> 60
<211> 339
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (1)..(339)
<223> IgG1 región constante de cadena pesada

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (1)..(98)
<223> CH1

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (99)..(113)
<223> bisagra

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (114)..(223)
<223> CH2

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (224)..(339)
<223> CH3

<400> 60

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

```
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
            20                  25                  30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
        35                  40                  45

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

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145                 150                 155                 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Asn Val Ser Val Leu Thr Val Leu
            180                 185                 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
225                 230                 235                 240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asx Asn Gly Gln Pro Glu
```

260 265 270

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
275 280 285

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
290 295 300

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
305 310 315 320

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Thr His Thr Cys Pro
325 330 335

Pro Cys Pro

<210> 61
<211> 326
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (1)..(326)
<223> IgG2 región constante de cadena pesada

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (1)..(98)
<223> CH1

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (99)..(110)
<223> bisagra

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (111)..(219)
<223> CH2

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (220)..(326)
<223> CH3

<400> 61

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

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

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
115 120 125

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
130 135 140

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145 150 155 160

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn
165 170 175

Ser Thr Phe Arg Asn Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp
180 185 190

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro
195 200 205

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu
210 215 220

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
225 230 235 240

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
245 250 255

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
260 265 270

Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
275 280 285

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
290 295 300

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
305 310 315 320

Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 62
<211> 377
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (1)..(377)
<223> IgG3 región constante de cadena pesada

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (1)..(98)
<223> CH1

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (99)..(115)
<223> bisagra 1

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (116)..(130)
<223> bisagra 2

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (131)..(145)
<223> bisagra 3

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (146)..(160)
<223> bisagra 4

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (161)..(270)
<223> CH2

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA

<222> (271)..(377)
<223> CH3

<400> 62

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

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

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val Glu Leu Lys Thr Pro Leu Gly Asp Thr Thr His Thr Cys Pro
100 105 110

Arg Cys Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg
115 120 125

Cys Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys
130 135 140

Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro
145 150 155 160

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
165 170 175

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
180 185 190

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Lys Trp Tyr
195 200 205

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
210 215 220

Gln Tyr Asn Ser Thr Phe Arg Asn Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
225 230 235 240

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
245 250 255

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln
260 265 270

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
275 280 285

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
290 295 300

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Ser Gly Gln Pro Glu Asn Asn
305 310 315 320

Tyr Asn Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
325 330 335

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Ile
340 345 350

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Arg Phe Thr Gln
355 360 365

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
370 375

<210> 63
<211> 327
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (1)..(327)
<223> IgG4 región constante de cadena pesada

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (1)..(98)
<223> CH1

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (99)..(110)
<223> bisagra

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (111)..(220)
<223> CH2

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (221)..(327)
<223> CH3

<400> 63

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

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

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro
100 105 110

Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140

Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Asn Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu

195 200 205

Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys
225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285

Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
325

<210> 64
<211> 476
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (1)..(476)
<223> IgM región constante de cadena pesada

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (1)..(104)
<223> CH1

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (105)..(217)
<223> CH2

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (218)..(323)
<223> CH3

<220>
<221> MISC_CARACTERISTICA
<222> (324)..(476)
<223> CH4

<400> 64

Gly Ser Ala Ser Ala Pro Thr Leu Phe Pro Leu Val Ser Cys Glu Asn
1 5 10 15

Ser Pro Ser Asp Thr Ser Ser Val Ala Val Gly Cys Leu Ala Gln Asp
20 25 30

Phe Leu Pro Asp Ser Ile Thr Phe Ser Trp Lys Tyr Lys Asn Asn Ser
35 40 45

Asp Ile Ser Ser Thr Arg Gly Phe Pro Ser Val Leu Arg Gly Gly Lys
50 55 60

Tyr Ala Ala Thr Ser Gln Val Leu Leu Pro Ser Lys Asp Val Met Gln
65 70 75 80

Gly Thr Asp Glu His Val Val Cys Lys Val Gln His Pro Asn Gly Asn
85 90 95

Lys Glu Lys Asn Val Pro Leu Pro Val Ile Ala Glu Leu Pro Pro Lys
100 105 110

Val Ser Val Phe Val Pro Pro Arg Asp Gly Phe Phe Gly Asn Pro Arg
115 120 125

Ser Lys Ser Lys Leu Ile Cys Gln Ala Thr Gly Phe Ser Pro Arg Gln
130 135 140

Ile Gln Val Ser Trp Leu Arg Glu Gly Lys Gln Asn Gly Ser Gly Val
145 150 155 160

Thr Thr Asp Gln Val Gln Ala Glu Ala Lys Glu Ser Gly Pro Thr Thr
165 170 175

Tyr Lys Val Thr Ser Thr Leu Thr Ile Lys Glu Ser Asp Trp Leu Ser
180 185 190

Gln Ser Met Phe Thr Cys Arg Val Asp His Arg Gly Leu Thr Phe Gln
195 200 205

Gln Asn Ala Ser Ser Met Cys Val Pro Asp Gln Asp Thr Ala Ile Arg
210 215 220

```
Val Phe Ala Ile Pro Pro Ser Phe Ala Ser Ile Phe Leu Thr Lys Ser
225                 230                 235                 240

Thr Lys Leu Thr Cys Leu Val Thr Asp Leu Thr Thr Tyr Asp Ser Val
                245                 250                 255

Thr Ile Ser Trp Thr Arg Gln Asn Gly Glu Ala Val Lys Thr His Thr
            260                 265                 270

Asn Ile Ser Glu Ser His Pro Asn Ala Thr Phe Ser Ala Val Gly Glu
        275                 280                 285

Ala Ser Ile Cys Glu Asp Asp Trp Asn Ser Gly Glu Arg Phe Thr Cys
    290                 295                 300

Thr Val Thr His Thr Asp Leu Pro Ser Pro Leu Lys Gln Thr Ile Ser
305                 310                 315                 320

Arg Pro Lys Gly Val Ala Leu His Arg Pro Asp Val Tyr Leu Leu Pro
                325                 330                 335

Pro Ala Arg Glu Gln Leu Asn Leu Arg Glu Ser Ala Thr Ile Thr Cys
            340                 345                 350

Leu Val Thr Gly Phe Ser Pro Ala Asp Val Phe Val Gln Trp Gln Met
        355                 360                 365

Gln Arg Gly Gln Pro Leu Ser Pro Glu Lys Tyr Val Thr Ser Ala Pro
    370                 375                 380

Met Pro Glu Pro Gln Ala Pro Gly Arg Tyr Phe Ala His Ser Ile Leu
385                 390                 395                 400

Thr Val Ser Glu Glu Glu Trp Asn Thr Gly Glu Thr Tyr Thr Cys Val
                405                 410                 415

Val Ala His Glu Ala Leu Pro Asn Arg Val Thr Glu Arg Thr Val Asp
            420                 425                 430

Lys Ser Thr Gly Lys Pro Thr Ser Ala Asp Glu Glu Gly Phe Glu Asn
        435                 440                 445

Leu Trp Ala Thr Ala Ser Thr Phe Ile Val Leu Tyr Asn Val Ser Leu
    450                 455                 460
```

Val Met Ser Asp Thr Ala Gly Thr Cys Tyr Val Lys
465 470 475

<210> 65
<211> 8
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 65
Gly Gly Gly Lys Gly Gly Gly Gly
1 5

<210> 66
<211> 8
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 66
Gly Gly Gly Asn Gly Ser Gly Gly
1 5

<210> 67
<211> 8
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 67

Gly Gly Gly Cys Gly Gly Gly Gly
1 5

<210> 68
<211> 5
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 68
Gly Pro Asn Gly Gly
1 5

FIG. 1A

Secuencia de señal

Met Ala Trp Val Trp Thr Leu Leu Phe Leu Met Ala Ala Ala Gln
ATG GCT TGG GTG TGG ACC TTG CTA TTC CTG ATG GCG GCC GCC CAA

GLP-1

Ser Ile Gln Ala His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser
AGT ATA CAG GCC CAT GCT GAA GGG ACC TTT ACT AGT GAT GTA AGT

Ser Tyr Leu Glu Gly Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Glu Trp Leu
TCT TAT TTG GAA GGC CAA GCT GCC AAG GAA TTC ATT GAA TGG CTG

enlazador VH

Val Lys Gly Arg Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Thr Leu
GTG AAA GGC CGA GGA GGT GGA TCC GGT GGA GGC TCC GGT ACC TTA

bisagra

Val Thr Asn Ser Ser Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
GTC ACC AAC TCC TCA GAG CCC AAA TCT TGT GAC AAA ACT CAC ACG

CH2

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
TGC CCA CCG TGC CCA GCA CCT GAA CTC CTG GGG GGA CCG TCA GTC

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
TTC CTC TTC CCC CCA AAA CCC AAG GAC ACC CTC ATG ATC TCC CGG

Thr Pro glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
ACC CCT GAG GTC ACA TGC GTG GTG GTG GAC GTG AGC CAC GAA GAC

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
CCT GAG GTC AAG TTC AAC TGG TAC GTG GAC GGC GTG GAG GTG CAT

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr tyr
AAT GCC AAG ACA AAG CCG CGG GAG GAG CAG TAC AAC AGC ACG TAC

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
CGG GTG GTC AGC GTC CTC ACC GTC CTG CAC CAG GAC TGG CTG AAT

FIG. 1B

```
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala
GGC AAG GAG TAC AAG TGC AAG GTC TCC AAC AAA GCC CTC CCA GCC

                                                  CH3
Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
CCC ATC GAG AAA ACC ATC TCC AAA GCC AAA GGG CAG CCC CGA GAA

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys
CCA CAG GTG TAC ACC CTG CCC CCA TCC CGG GAT GAG CTG ACC AAG

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
AAC CAG GTC AGC CTG ACC TGC CTG GTC AAA GGC TTC TAT CCC AGC

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
GAC ATC GCC GTG GAG TGG GAG AGC AAT GGG CAG CCG GAG AAC AAC

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
TAC AAG ACC ACG CCT CCC GTG CTG GAC TCC GAC GGC TCC TTC TTC

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
CTC TAC AGC AAG CTC ACC GTG GAC AAG AGC AGG TGG CAG CAG GGG

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
AAC GTC TTC TCA TGC TCC GTG ATG CAT GAG GCT CTG CAC AAC CAC

                                                  interrupción
Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
TAC ACG CAG AAG AGC CTC TCC CTG TCT CCG GGT AAA TGA
```

FIG. 2A

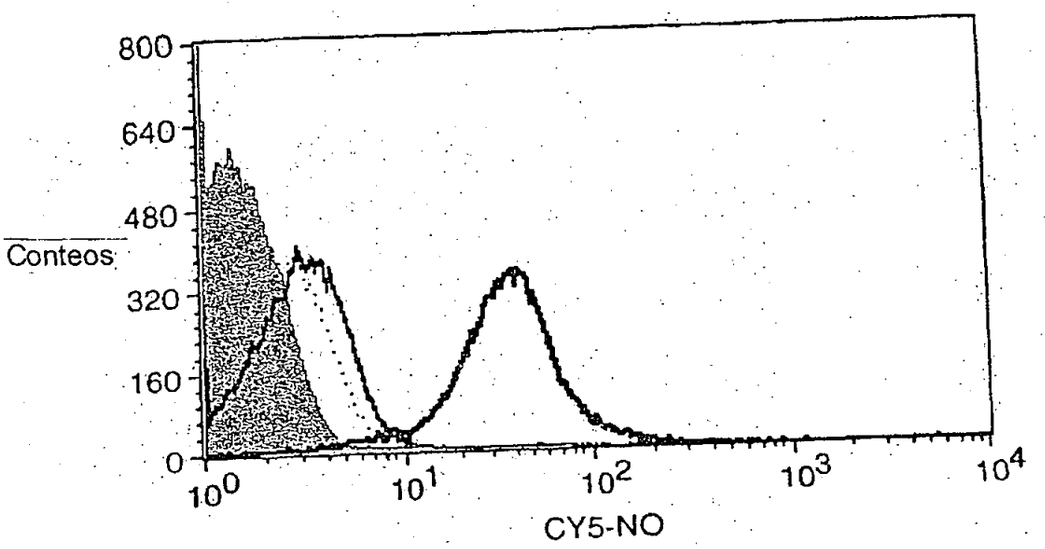

800
640
480
320
160
0
Conteos
10^0
10^1
10^2
10^3
10^4
CY5-NO

FIG. 2B

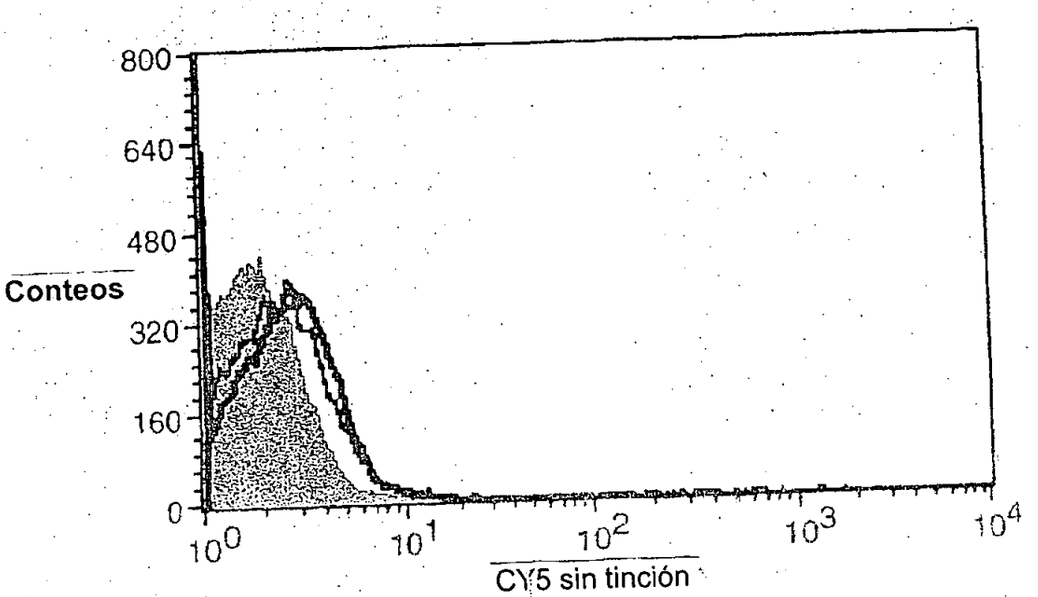

800
640
480
320
160
0
Conteos
10^0
10^1
10^2
10^3
10^4
CY5 sin tinción

FIG. 2C

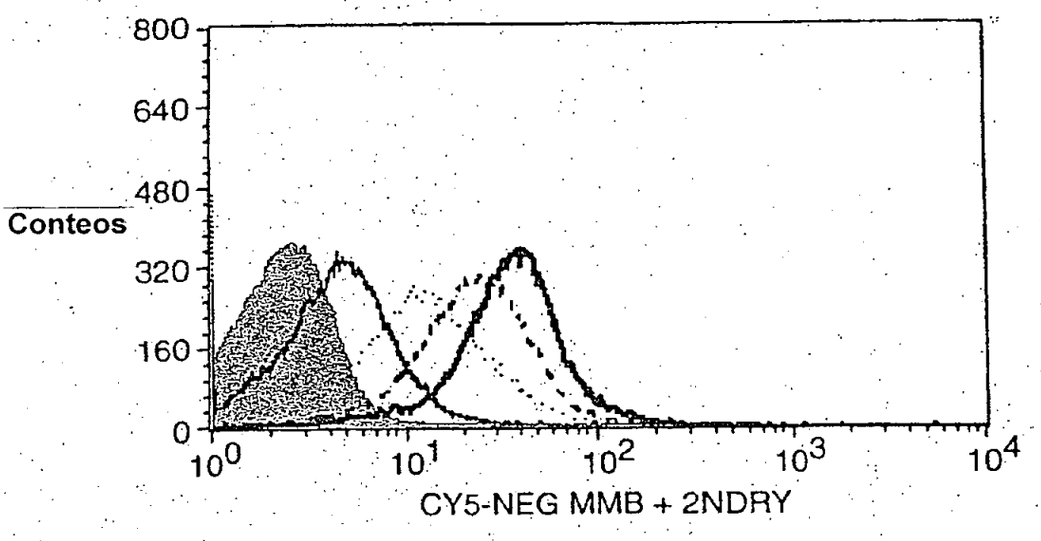

800
640
480
320
160
0
Conteos
10^0
10^1
10^2
10^3
10^4
CY5-NEG MMB + 2NDRY

FIG. 3A

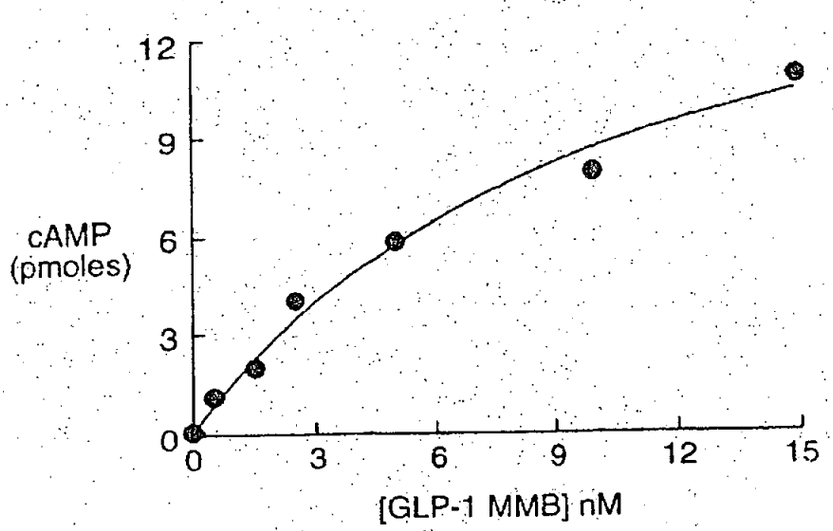

12
9
6
3
0
cAMP
(pmoles)
0
3
6
9
12
15
[GLP-1 MMB] nM

FIG. 3B

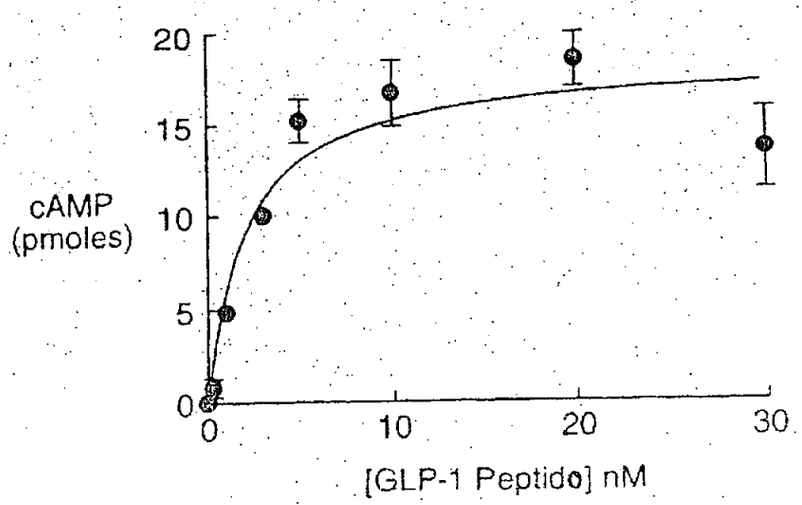

20
15
10
5
0
cAMP
(pmoles)
0
10
20
30
[GLP-1 Peptido] nM

FIG. 3C

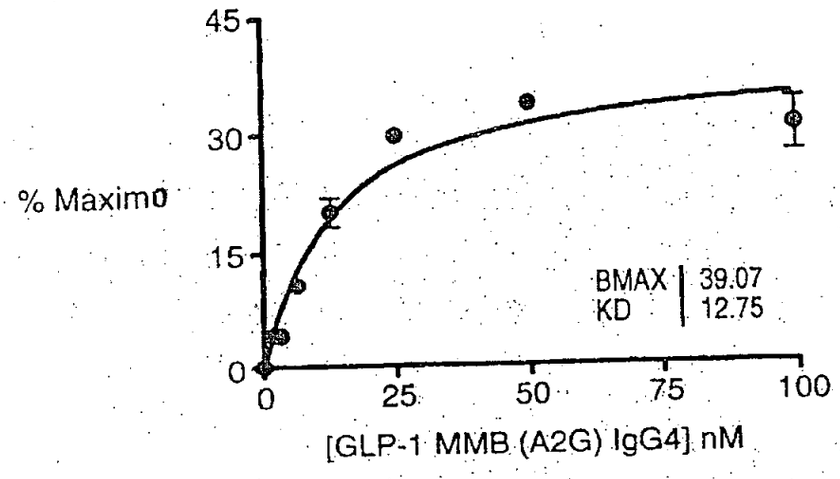

45
30
15
0
% Maximo
0
25
50
75
100
BMAX 39.07
KD 12.75
[GLP-1 MMB (A2G) IgG4] nM

FIG. 3D

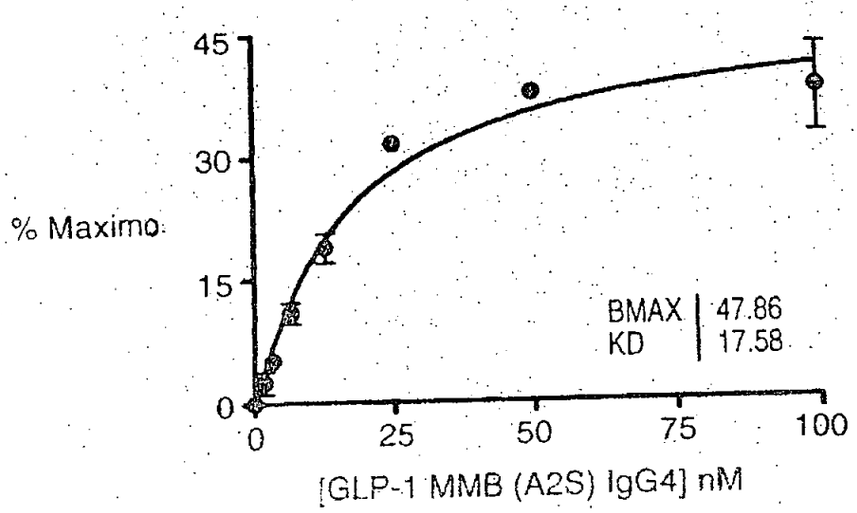

45
30
15
0
% Maximo
0
25
50
75
100
BMAX 47.86
KD 17.58
[GLP-1 MMB (A2S) IgG4] nM

FIG. 3E

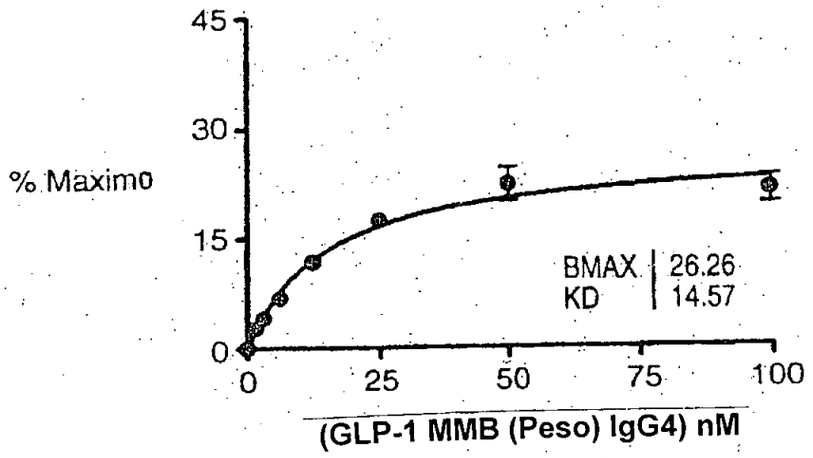

45
30
15
0
% Maximo
BMAX 26.26
KD 14.57
0
25
50
75
100
(GLP-1 MMB (Peso) IgG4) nM

FIG. 4

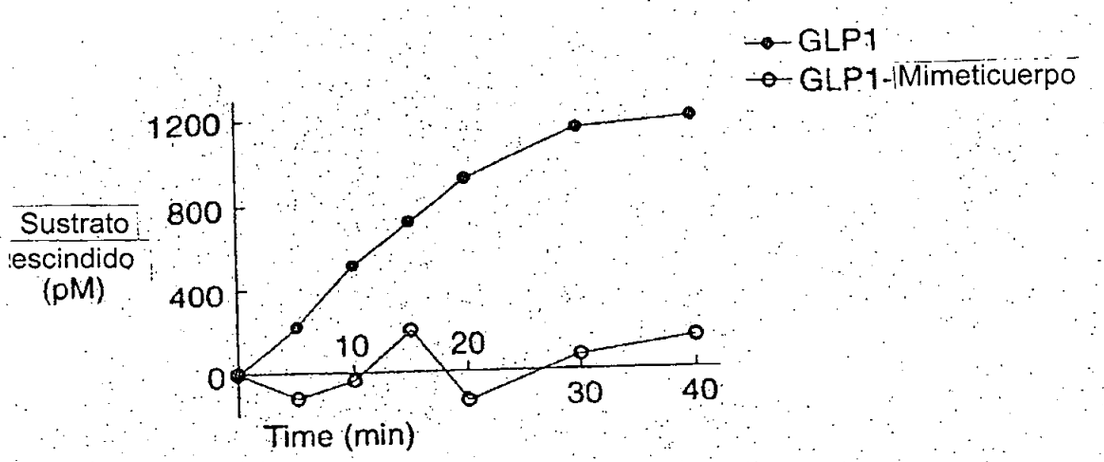

GLP1
GLP1-Mimeticuerpo
1200
800
400
0
Sustrato escindido (pM)
10
20
30
40
Time (min)

FIG. 5

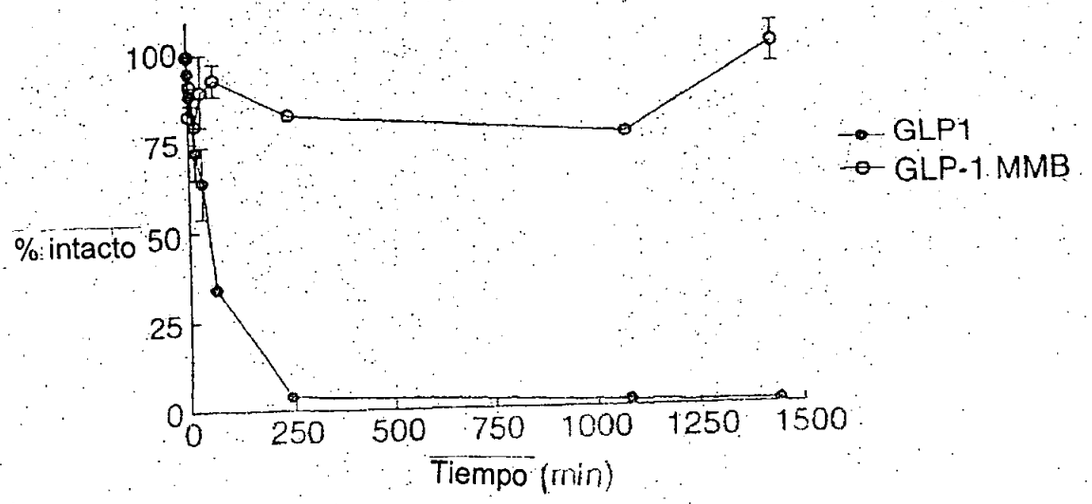

100
75
50
25
0
% intacto
0
250
500
750
1000
1250
1500
Tiempo (min)
GLP1
GLP-1 MMB

FIG. 6A

Liberación de insulina en células Rin M tratadas con GLP-1 y exendina 4
n=3

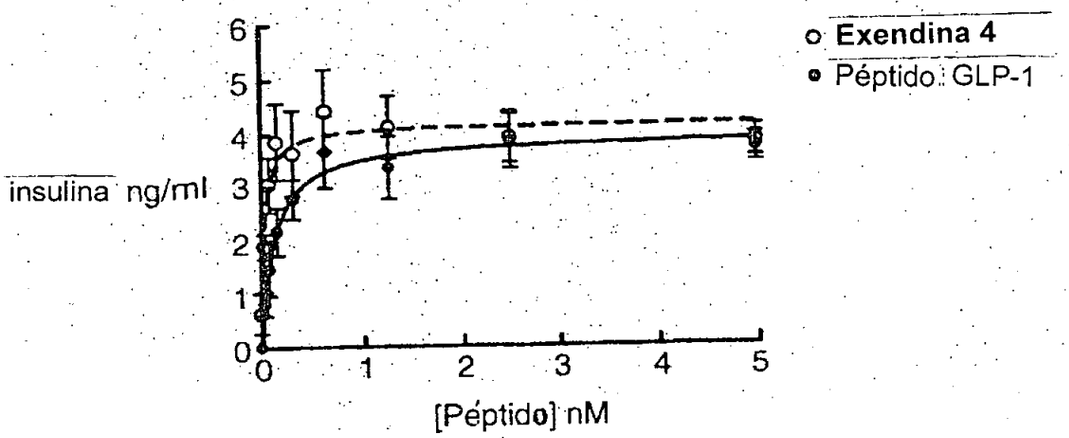


FIG. 6B

Liberación de insulina en células Rin M en presencia de GLP-1 mmb's n=3

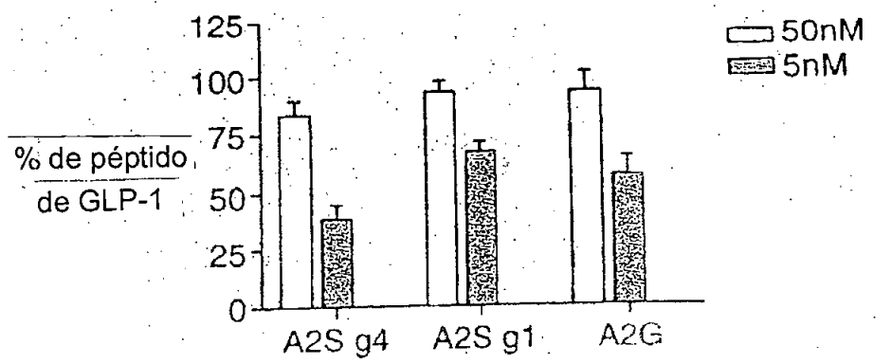


FIG. 7A

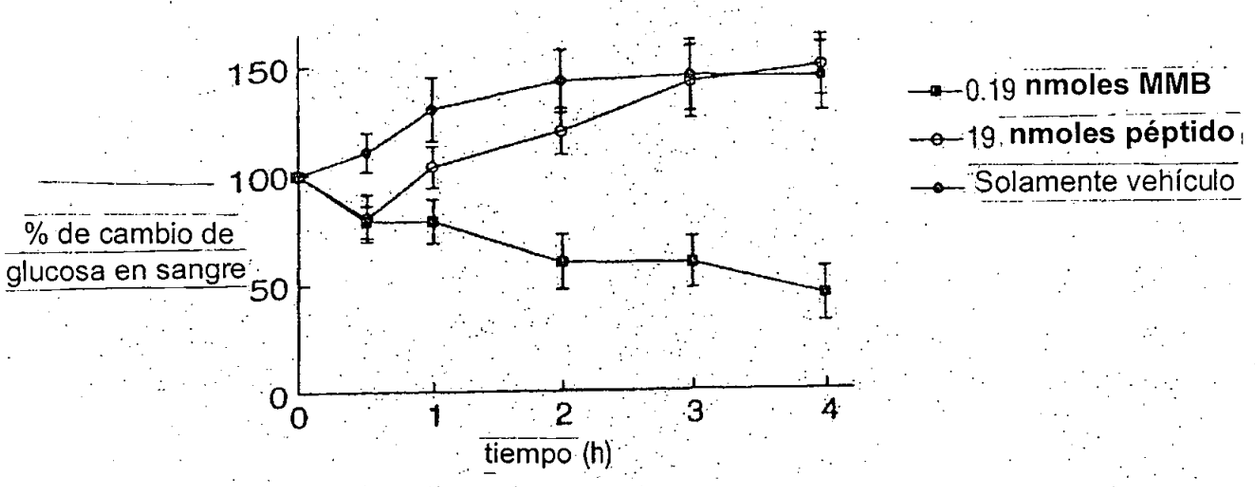

150
100
50
0
0
1
2
3
4
% de cambio de glucosa en sangre
tiempo (h)
0.19 nmoles MMB
19 nmoles péptido
Solamente vehículo

FIG. 7B

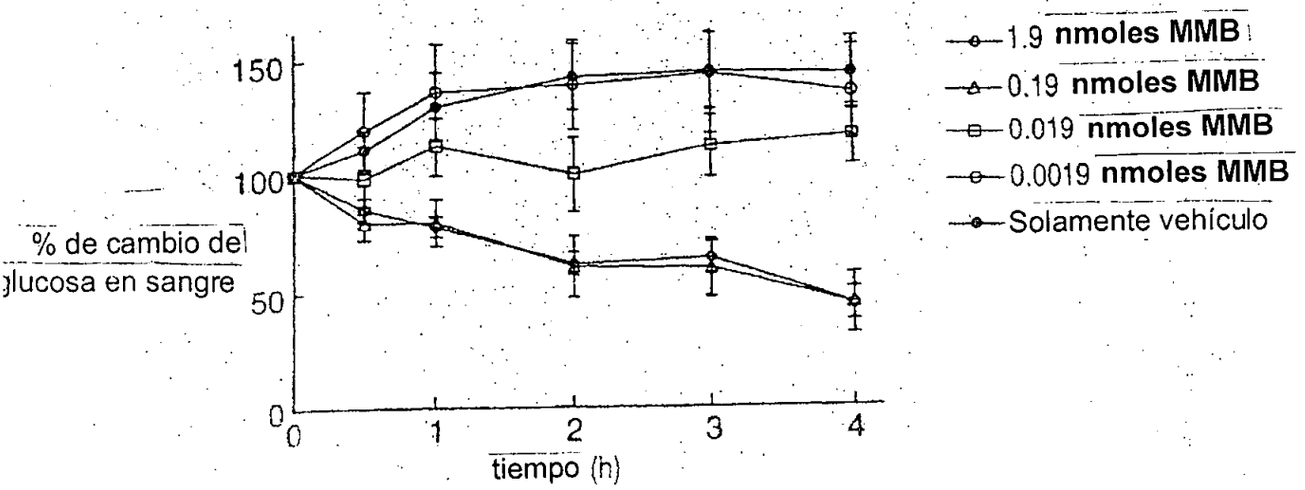

150
100
50
0
0
1
2
3
4
% de cambio del glucosa en sangre
tiempo (h)
1.9 nmoles MMB
0.19 nmoles MMB
0.019 nmoles MMB
0.0019 nmoles MMB
Solamente vehículo

FIG. 8

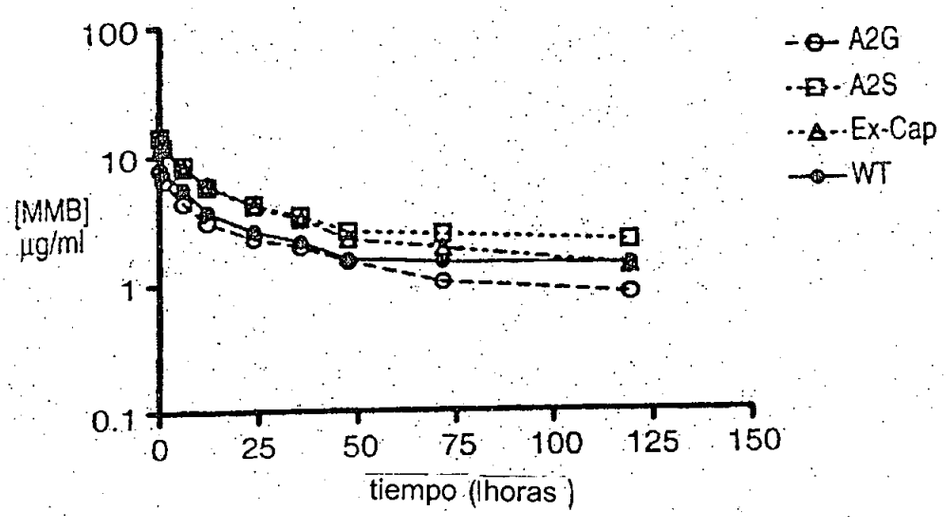

100
10
1
0.1
[MMB]
µg/ml
0
25
50
75
100
125
150
tiempo (horas)
A2G
A2S
Ex-Cap
WT

FIG. 9

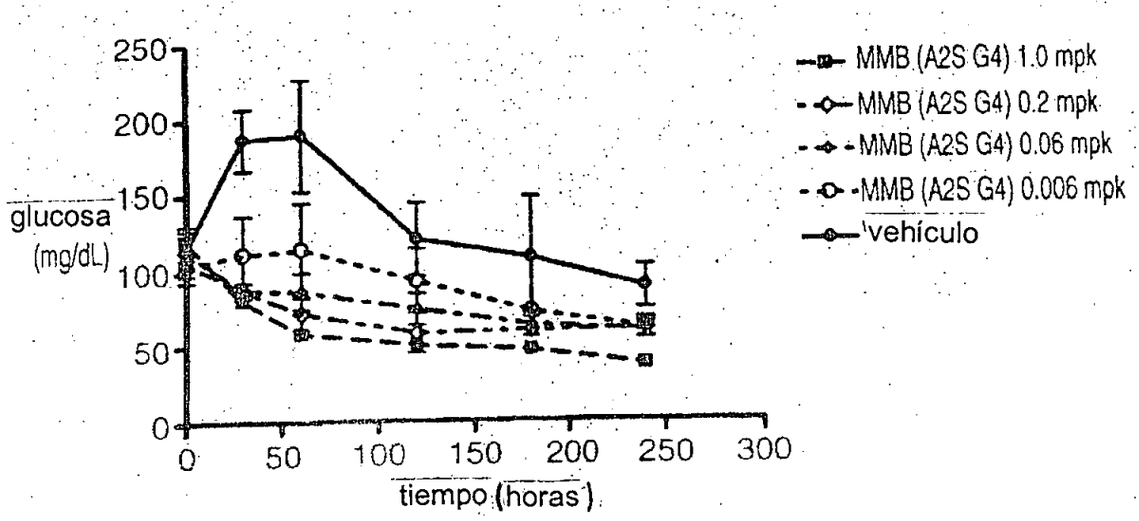

250
200
150
100
50
0
glucosa
(mg/dL)
0
50
100
150
200
250
300
tiempo (horas)
MMB (A2S G4) 1.0 mpk
MMB (A2S G4) 0.2 mpk
MMB (A2S G4) 0.06 mpk
MMB (A2S G4) 0.006 mpk
vehículo

FIG. 10

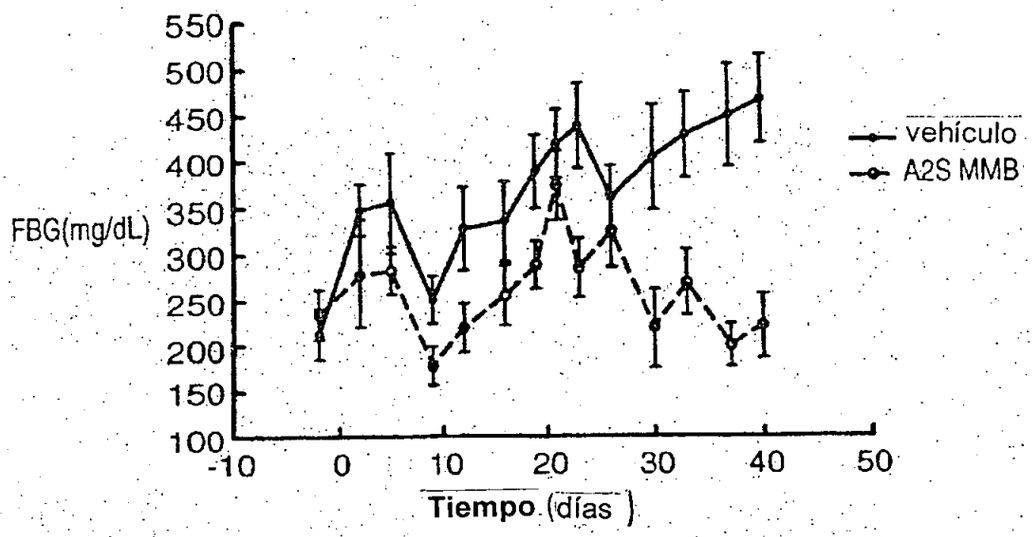

FBG(mg/dL)
550
500
450
400
350
300
250
200
150
100
-10
0
10
20
30
40
50
Tiempo (días)
vehículo
A2S MMB

FIG. 11

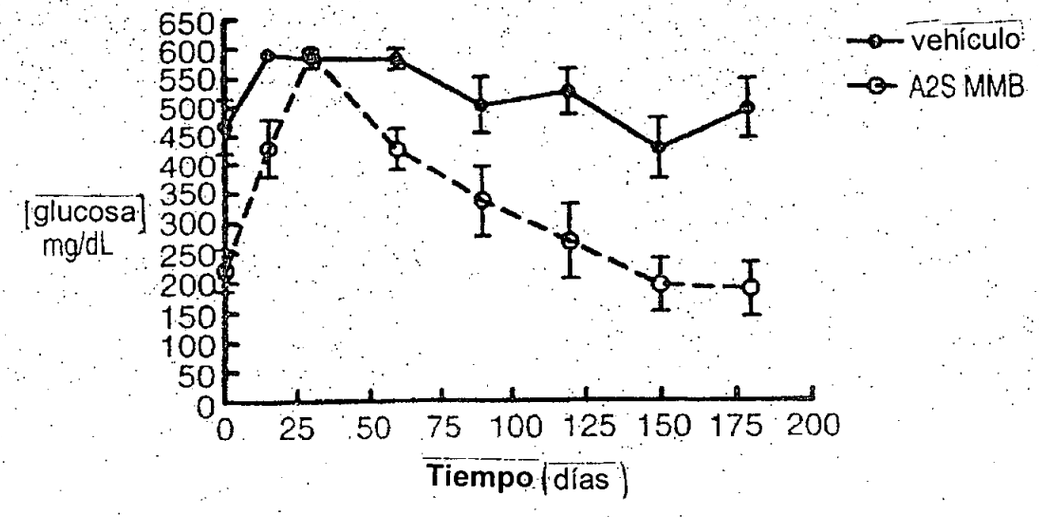

[glucosa] mg/dL
650
600
550
500
450
400
350
300
250
200
150
100
50
0
0
25
50
75
100
125
150
175
200
Tiempo (días)
vehículo
A2S MMB

FIG. 12

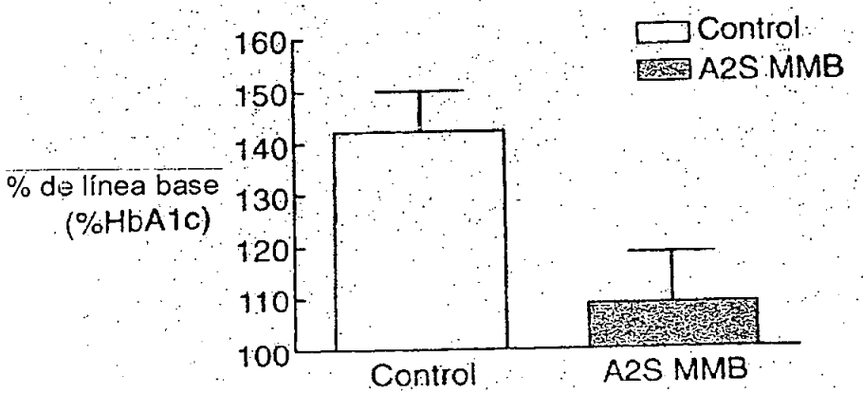

Control
A2S MMB
% de línea base
(%HbA1c)
160
150
140
130
120
110
100
Control
A2S MMB

FIG. 13A

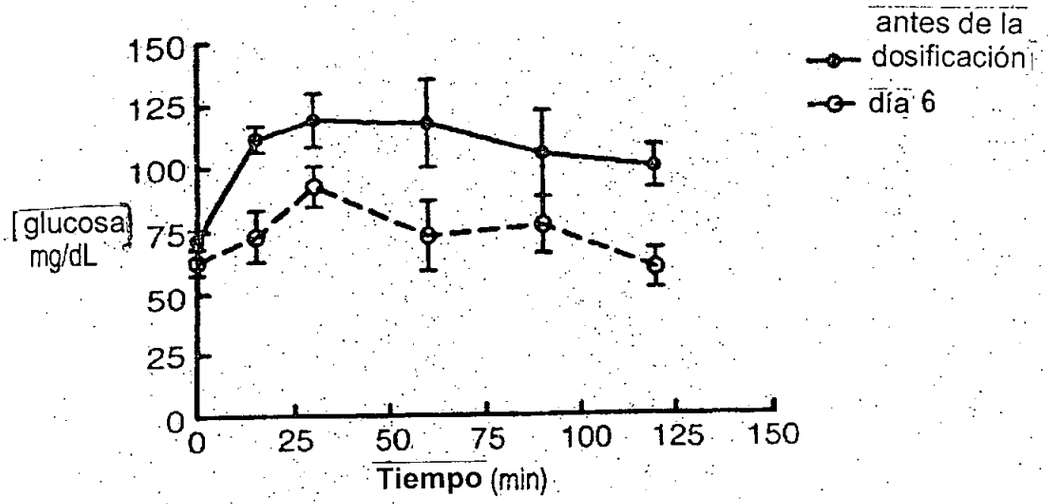


FIG. 13B

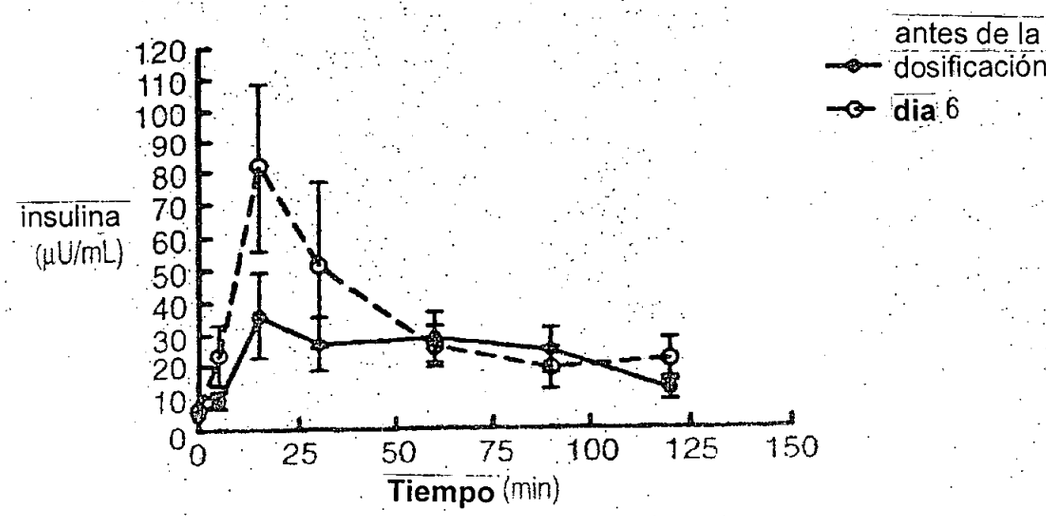


FIG. 14

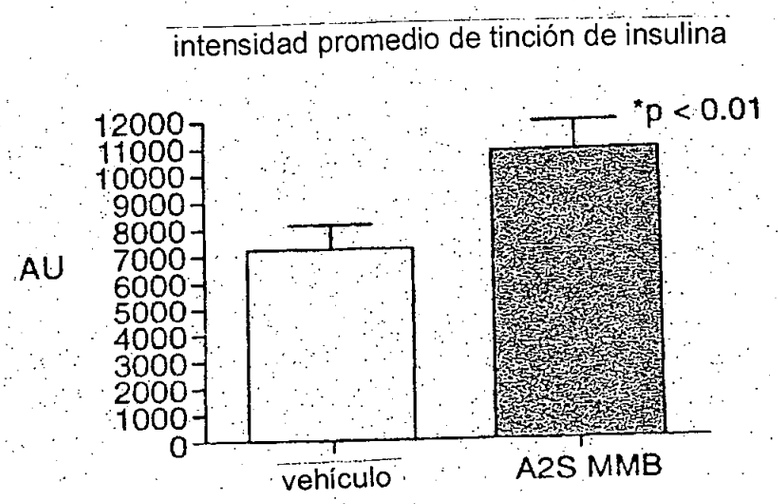

intensidad promedio de tinción de insulina
*p < 0.01
AU
12000
11000
10000
9000
8000
7000
6000
5000
4000
3000
2000
1000
0
vehículo
A2S MMB

FIG. 15

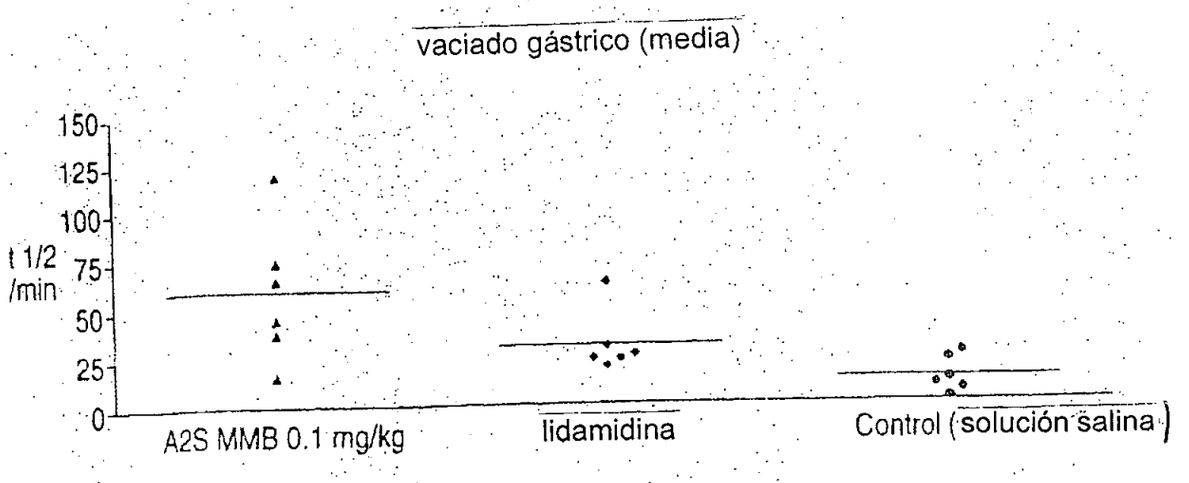

vaciado gástrico (media)
t 1/2 /min
150
125
100
75
50
25
0
A2S MMB 0.1 mg/kg
lidamidina
Control (solución salina)

FIG. 16

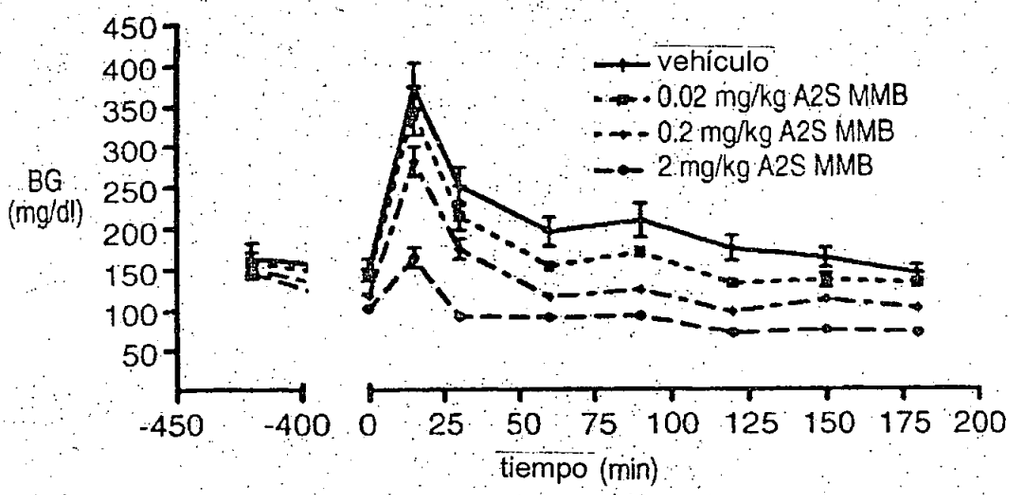

450
400
350
300
250
200
150
100
50
BG
(mg/dl)
-450
-400
0
25
50
75
100
125
150
175
200
tiempo (min)
vehículo
0.02 mg/kg A2S MMB
0.2 mg/kg A2S MMB
2 mg/kg A2S MMB

FIG. 17A

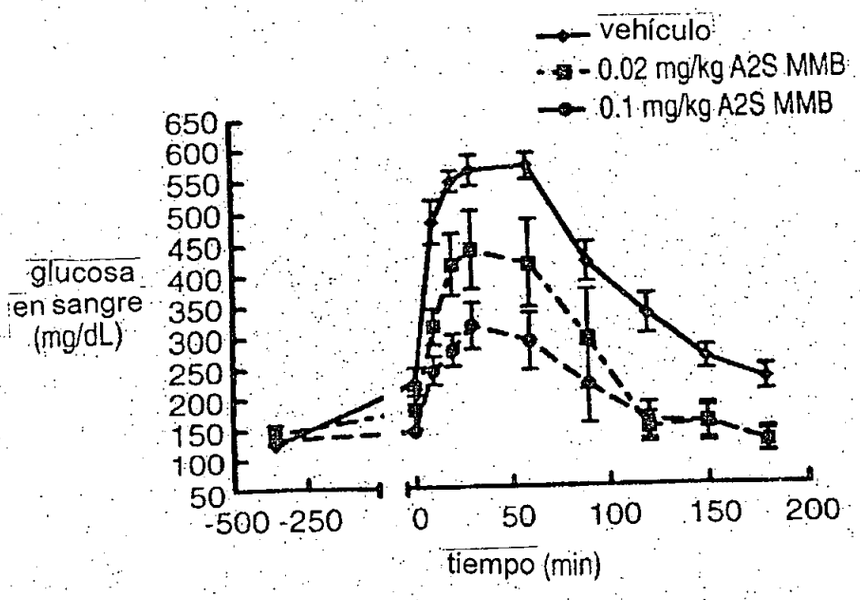


FIG. 17B

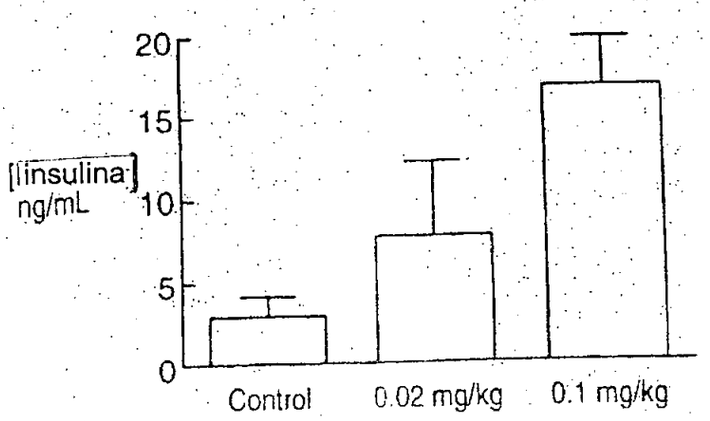


FIG. 18A

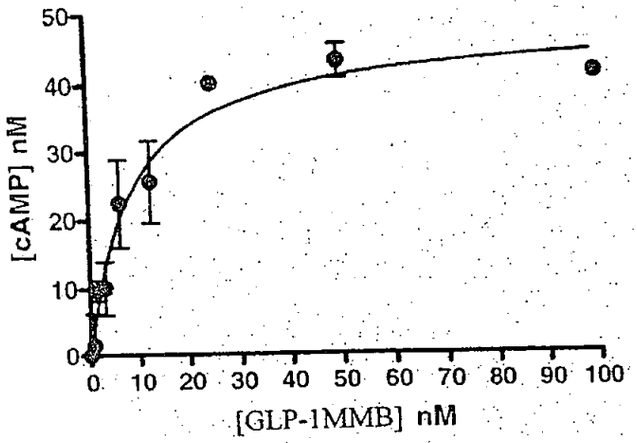


FIG. 18B

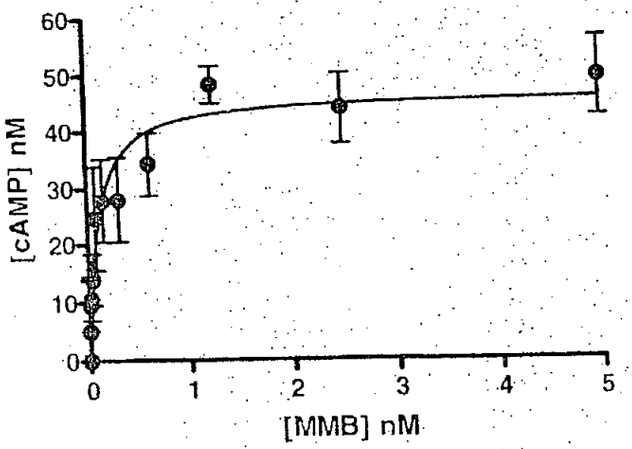


FIG. 19

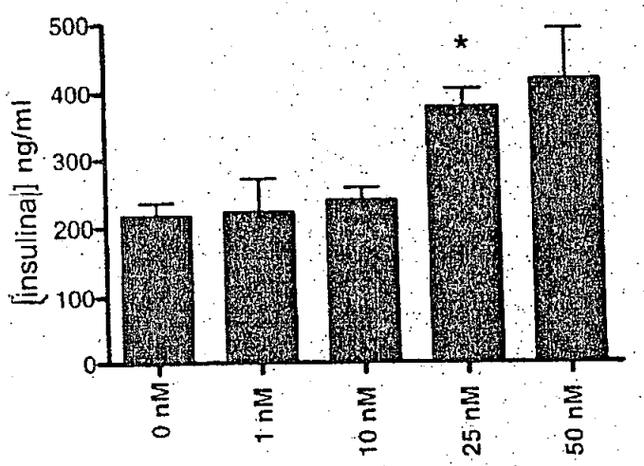


FIG. 20A

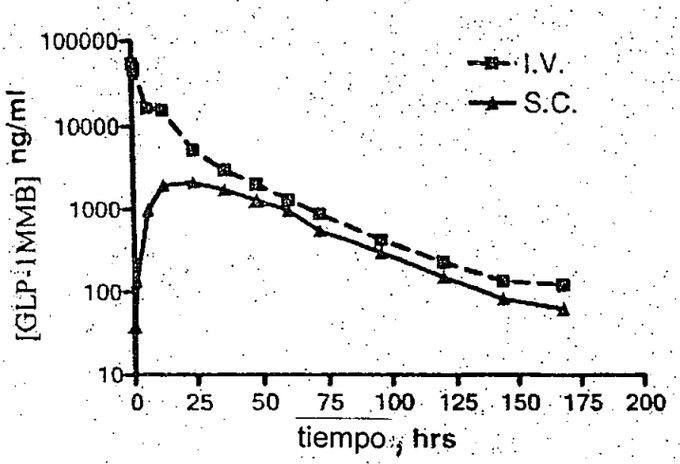


FIG. 20B

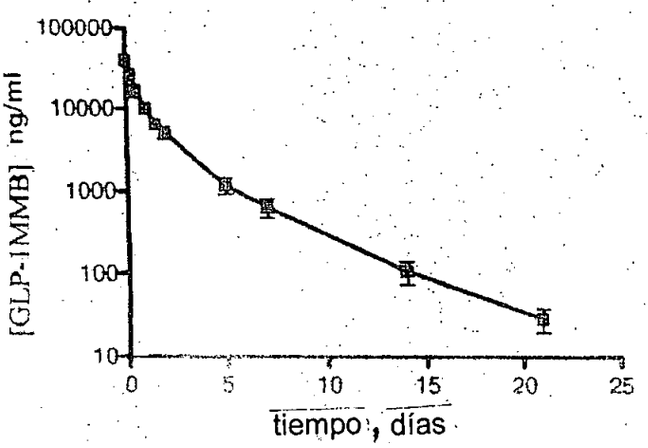


FIG. 21A

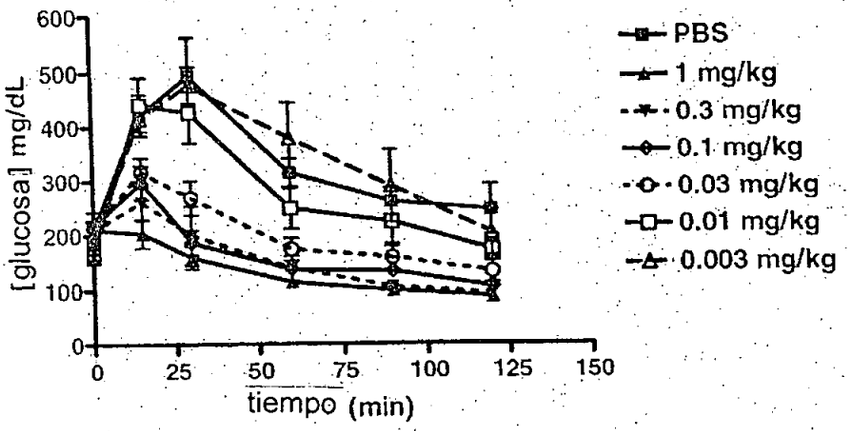


FIG. 21B

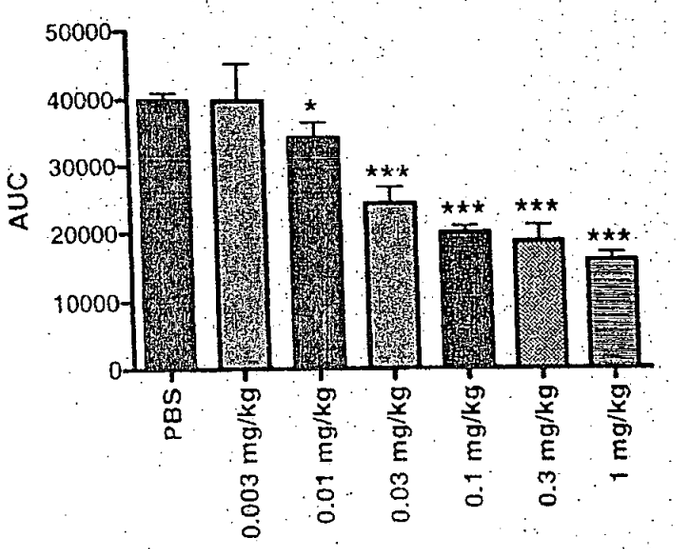


FIG. 21C

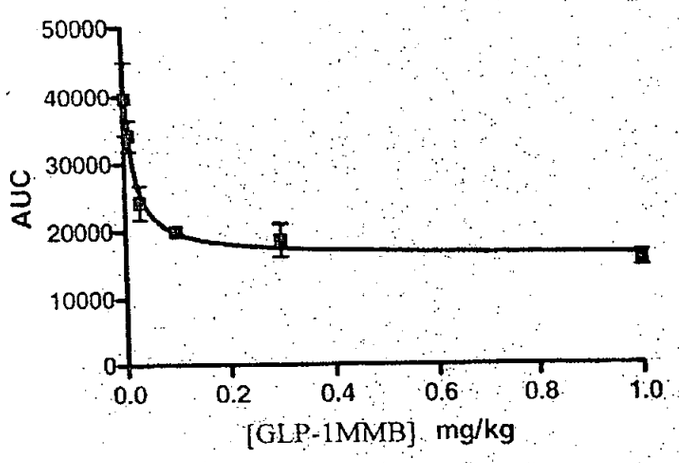

50000
40000
30000
20000
10000
0
AUC
0.0
0.2
0.4
0.6
0.8
1.0
[GLP-1MMB] mg/kg

FIG. 22A

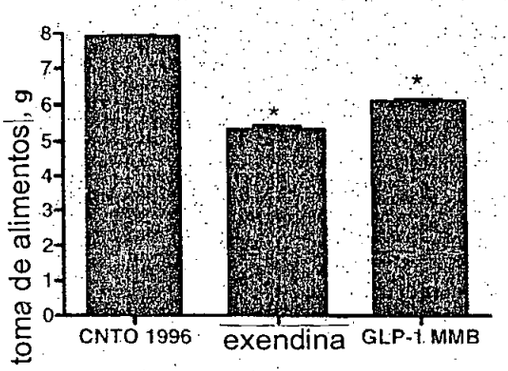


FIG. 22B

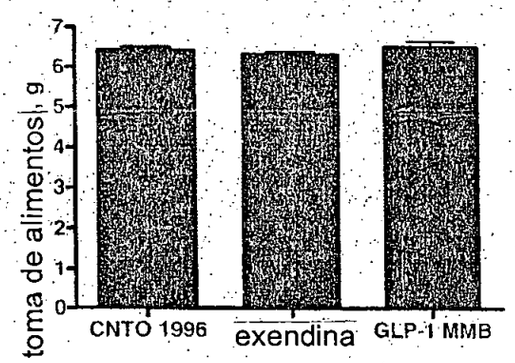


FIG. 23A

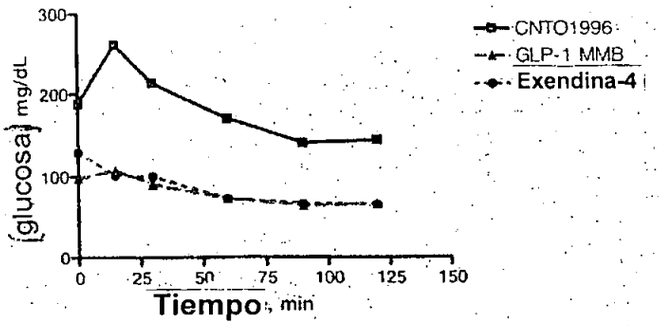


FIG. 23B

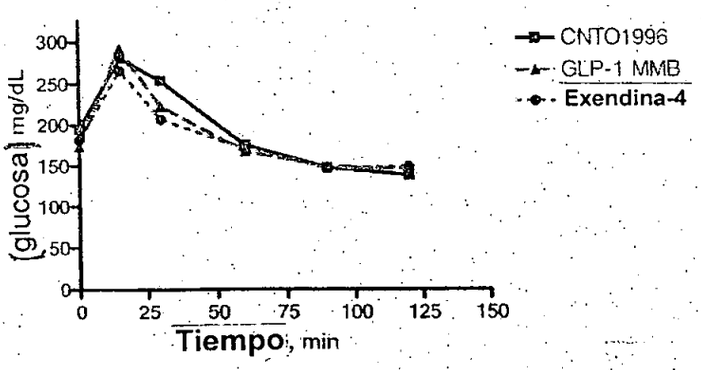


FIG. 23C

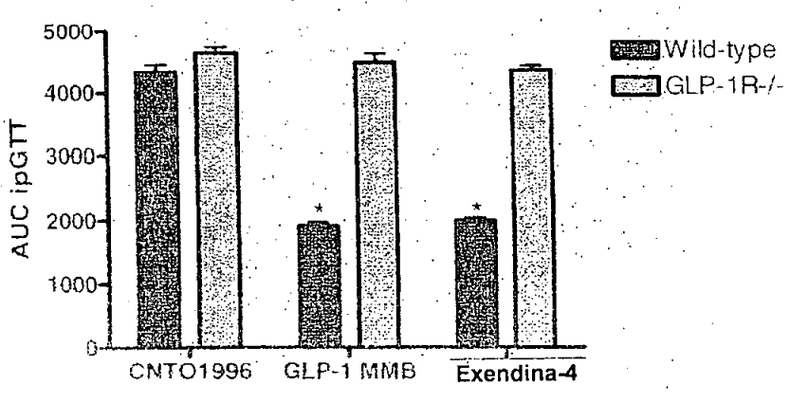


FIG. 24

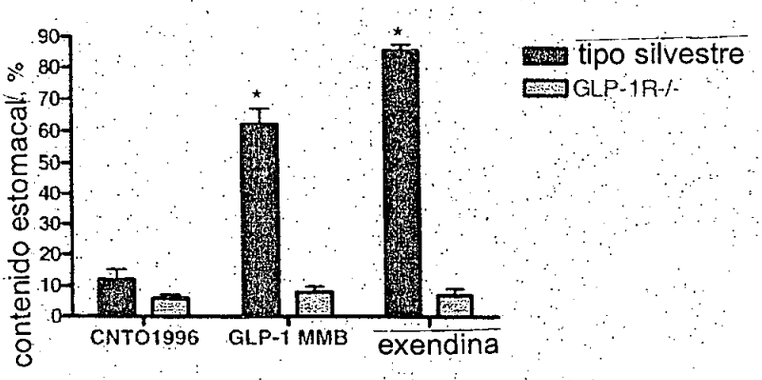

contenido estomacal, %
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
CNTO1996
GLP-1 MMB
exendina
tipo silvestre
GLP-1R-/-

FIG. 25

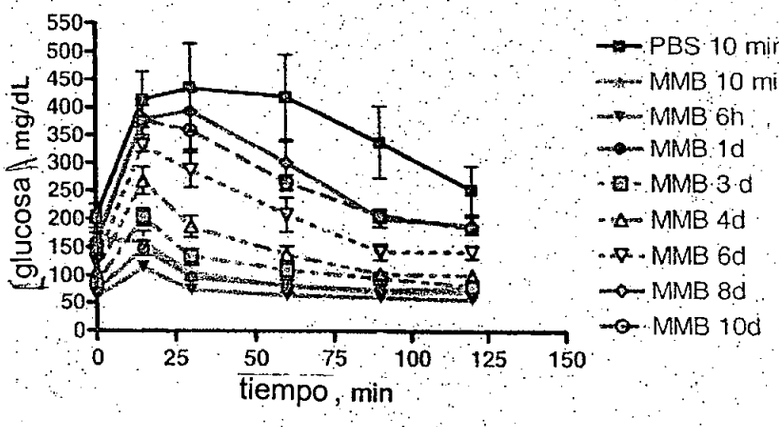

glucosa, mg/dL
550
500
450
400
350
300
250
200
150
100
50
0
0
25
50
75
100
125
150
tiempo, min
PBS 10 min
MMB 10 min
MMB 6h
MMB 1d
MMB 3 d
MMB 4d
MMB 6d
MMB 8d
MMB 10d

FIG. 26

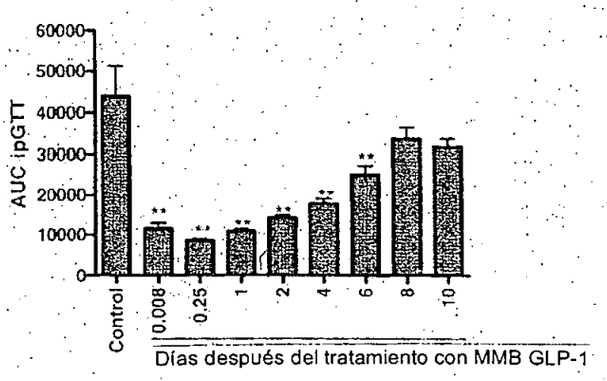
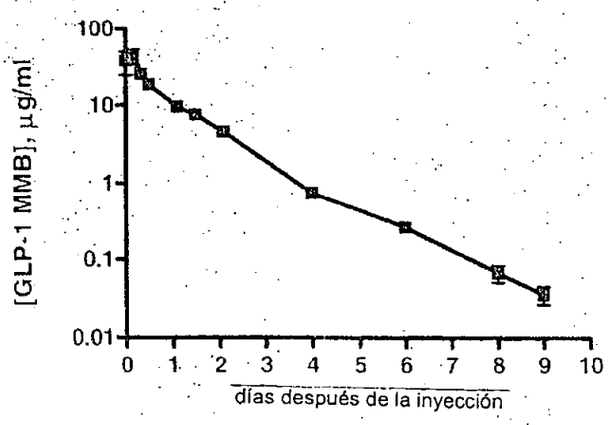

AUC ipGTT
60000
50000
40000
30000
20000
10000
0
Control
0.008
0.25
1
2
4
6
8
10
Días después del tratamiento con MMB GLP-1

FIG. 27


[GLP-1 MMB], µg/ml
100
10
1
0.1
0.01
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10
días después de la inyección

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

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau

(43) International Publication Date
24 January 2008 (24.01.2008)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2008/011446 A2

(51) International Patent Classification:
C12N 15/09 (2006.01)

(21) International Application Number:
PCT/US2007/073752

(22) International Filing Date: 18 July 2007 (18.07.2007)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
60/831,704 18 July 2006 (18.07.2006) US

(71) Applicant *(for all designated States except US)*: **CENTOCOR, INC.** [US/US]; 200 Great Valley Parkway, Malvern, Pennsylvania 19355 (US).

(72) Inventors; and
(75) Inventors/Applicants *(for US only)*: **O'NEIL, Karyn T.** [US/US]; 601 Beatty Road, Media, Pennsylvania 19063 (US). **PICHA, Kristen** [US/US]; 2065 Yellow Springs Road, Malvern, Pennsylvania 19355 (US).

(74) Agent: **JOHNSON, Philip S.**; Johnson & Johnson, One Johnson & Johnson Plaza, New Brunswick, New Jersey 08933 (US).

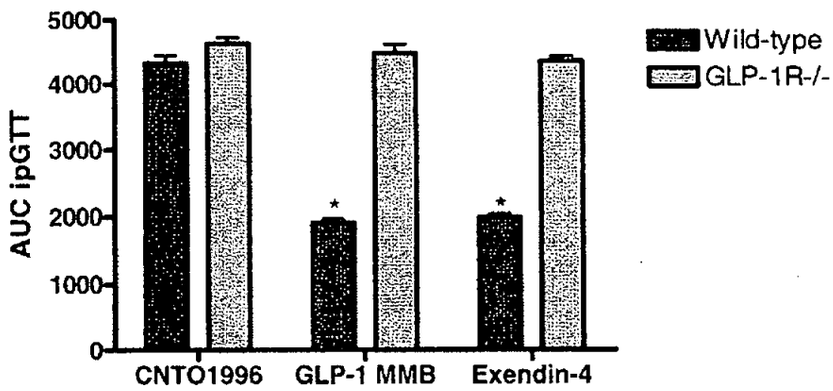
(81) Designated States *(unless otherwise indicated, for every kind of national protection available)*: AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN,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

(84) Designated States *(unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available)*: ARIPO (BW, GH, GM, KE, 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, MT, 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).

Published:
— *without international search report and to be republished upon receipt of that report*
— *with sequence listing part of description published separately in electronic form and available upon request from the International Bureau*

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: HUMAN GLP-1 MIMETIBODIES, COMPOSITIONS, METHODS AND USES



(57) Abstract: The present invention relates to at least one improved human GLP-1 mimetibody or specified portion or variant, including isolated nucleic acids that encode at least one GLP-1 mimetibody or specified portion or variant, GLP-1 mimetibody or specified portion or variants, vectors, host cells, transgenic animals or plants, and methods of making and using thereof, including therapeutic compositions, methods and devices.

WO 2008/011446 A2

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

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau

(43) International Publication Date
24 January 2008 (24.01.2008)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2008/011446 A3

(51) International Patent Classification:
C07K 14/605 (2006.01) *C07K 16/00* (2006.01)

(21) International Application Number:
PCT/US2007/073752

(22) International Filing Date: 18 July 2007 (18.07.2007)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
60/831,704 18 July 2006 (18.07.2006) US

(71) Applicant *(for all designated States except US)*: **CENTOCOR, INC.** [US/US]; 200 Great Valley Parkway, Malvern, Pennsylvania 19355 (US).

(72) Inventors; and
(75) Inventors/Applicants *(for US only)*: **O'NEIL, Karyn T.** [US/US]; 601 Beatty Road, Media, Pennsylvania 19063 (US). **PICHA, Kristen** [US/US]; 2065 Yellow Springs Road, Malvern, Pennsylvania 19355 (US).

(74) Agent: **JOHNSON, Philip S.**; Johnson & Johnson, One Johnson & Johnson Plaza, New Brunswick, New Jersey 08933 (US).

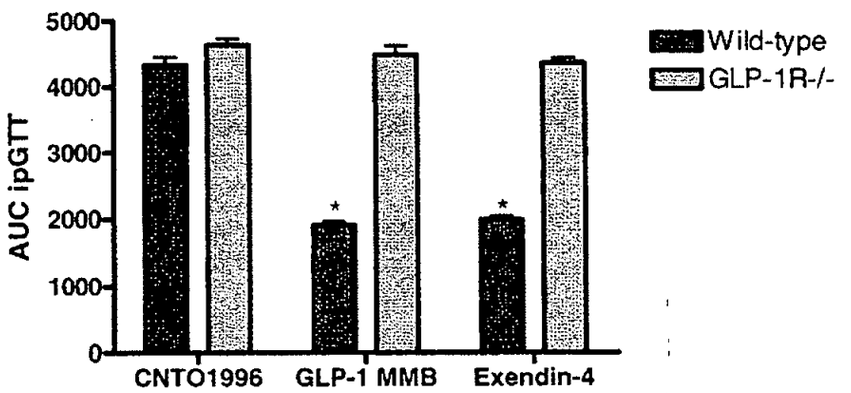
(81) Designated States *(unless otherwise indicated, for every kind of national protection available)*: AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN,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

(84) Designated States *(unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available)*: ARIPO (BW, GH, GM, KE, 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, MT, 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).

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:
18 September 2008

(54) Title: HUMAN GLP-1 MIMETIBODIES, COMPOSITIONS, METHODS AND USES



(57) Abstract: The present invention relates to at least one improved human GLP-1 mimetibody or specified portion or variant, including isolated nucleic acids that encode at least one GLP-1 mimetibody or specified portion or variant, GLP-1 mimetibody or specified portion or variants, vectors, host cells, transgenic animals or plants, and methods of making and using thereof, including therapeutic compositions, methods and devices.

WO 2008/011446 A3

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2007/073752

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. C07K14/605 C07K16/00

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)
C07K

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, CHEM ABS Data, WPI Data, BIOSIS, EMBASE, Sequence Search

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EP 1 559 724 A (SANWA KAGAKU KENKYUSHO CO [JP]) 3 August 2005 (2005-08-03) abstract sequence 3 -----	1-3,5,6, 18-38
X	WO 2005/097175 A (CENTOCOR INC [US]; O'NEIL KARYN [US]; PICHA KRISTEN [US]) 20 October 2005 (2005-10-20) the whole document sequences 7-14 paragraphs [0108], [0109] sequences 43, 45, 60-64 -----	1-3,5,6, 18-38
	-/--	

[X] Further documents are listed in the continuation of Box C.

[X] 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	Date of mailing of the international search report
17 June 2008	04/07/2008

Name and mailing address of the ISA/	Authorized officer
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	Petri, Bernhard

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2007/073752

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 01/98331 A (LILLY CO ELI [US]; GLAESNER WOLFGANG [US]; MILLICAN ROHN LEE [US]) 27 December 2001 (2001-12-27) the whole document page 4 sequences 13-14	1-3,5,6, 18-38
X	EP 1 408 050 A (SHANGHAI HUA YI BIO TECH LAB [CN]) 14 April 2004 (2004-04-14) the whole document page 4, line 17 page 8, line 17	1-3,5,6, 18-38
A	WO 2004/002424 A (CENTOCOR INC [US]) 8 January 2004 (2004-01-08) the whole document	1-3,5,6, 18-38

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

Continuation of Box II.1

Although claims 29-33 are directed to a diagnostic method practised on the human/animal body, and/or 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.: 4, 7-17

The present application contains 38 claims, of which at least 18 are independent directed each at GLP1 CH1 deleted mimetibody polypeptides. There is no clear distinction between the independent claims because of overlapping scope. In view of this multitude of independent claims of largely overlapping scope, further in view of the many permutations and alternatives within each of said independent claims, and in view of the fact that they are drafted in such a way that the claims as a whole are not in compliance with the provisions of clarity and conciseness of Article 6 PCT, as it is particularly burdensome for a skilled person to establish the subject-matter for which protection is sought. The non-compliance with the substantive provisions is to such an extent, that the search was performed taking into consideration the non-compliance in determining the extent of the search (PCT Guidelines 9.19 and 9.25).

The search was based on the subject-matter that, as far as can be understood, could reasonably be expected to be claimed later in the procedure, and the corresponding claims, namely claim 1 and 2, dependent claim 3 and redundant claims 5/6 directed at GLP-1 mimetibody nucleic acids, comprising coding regions encoding Seq.Id.Nos. 2, 4, 6, 7-14 and subject matter directly relating thereto (i.e. claims 18-38 in part).

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, 8.2), should the problems which led to the Article 17(2)PCT declaration be overcome.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2007/073752

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. [X] Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Although claims 29-33 are directed to a diagnostic method practised on the human/animal body, and/or 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. [X] Claims Nos.: 4, 7-17
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 No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. [ ] As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers allsearchable claims.

2. [ ] As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.

3. [ ] As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search reportcovers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. [ ] No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

[ ] The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.

[ ] The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.

[ ] No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/US2007/073752

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP 1559724 A	03-08-2005	AU 2003272970 A1	13-05-2004
		CA 2502118 A1	06-05-2004
		CN 1703424 A	30-11-2005
		WO 2004037859 A1	06-05-2004
		KR 20050049525 A	25-05-2005
		US 2006194720 A1	31-08-2006
WO 2005097175 A	20-10-2005	AR 049014 A1	21-06-2006
		AU 2005231359 A1	20-10-2005
		BR PI0509528 A	07-08-2007
		CA 2563379 A1	20-10-2005
		EP 1750754 A2	14-02-2007
		KR 20070004078 A	05-01-2007
		US 2007135338 A1	14-06-2007
WO 0198331 A	27-12-2001	AR 031701 A1	01-10-2003
		AT 346093 T	15-12-2006
		AU 6479101 A	02-01-2002
		AU 2001264791 B2	23-11-2006
		BR 0111562 A	15-04-2003
		CA 2412004 A1	27-12-2001
		CN 1468258 A	14-01-2004
		CZ 20024088 A3	14-05-2003
		DE 60124710 T2	13-09-2007
		DK 1294757 T3	19-03-2007
		EP 1294757 A2	26-03-2003
		ES 2275685 T3	16-06-2007
		HK 1055121 A1	21-09-2007
		HR 20020996 A2	29-02-2004
		HU 0301212 A2	28-08-2003
		JP 2004501162 T	15-01-2004
		MX PA02012203 A	06-06-2003
		NO 20025949 A	11-12-2002
		NZ 522330 A	26-11-2004
		PL 360406 A1	06-09-2004
		SK 17782002 A3	01-07-2003
		US 2003220243 A1	27-11-2003
EP 1408050 A	14-04-2004	AU 2002313869 B2	03-04-2008
		BR 0211435 A	13-07-2004
		CA 2454264 A1	27-02-2003
		WO 03016349 A1	27-02-2003
		CN 1363654 A	14-08-2002
		CN 1531551 A	22-09-2004
		JP 2005515167 T	26-05-2005
		US 2004146985 A1	29-07-2004
WO 2004002424 A	08-01-2004	AU 2003256336 A1	19-01-2004
		BR 0312276 A	26-04-2005
		CA 2490411 A1	08-01-2004
		EP 1575499 A2	21-09-2005
		JP 2005536992 T	08-12-2005
		KR 20050033563 A	12-04-2005
		MX PA05000202 A	30-09-2005
		US 2005191301 A1	01-09-2005

PCT REQUEST

Original (for **SUBMISSION**)

0	**For receiving Office use only**	
0-1	International Application No.	PCT/US07/73752
0-2	International Filing Date	18 JULY 2007 (18.07.2007)
0-3	Name of receiving Office and "PCT International Application"	PCT INTERNATIONAL APPLICATION RO/US

0-4	**Form PCT/RO/101 PCT Request**	
0-4-1	Prepared Using	PCT-SAFE [EASY mode] Version 3.51.022.197 MT/FOP 20070701/0.20.5.10
0-5	**Petition** The undersigned requests that the present international application be processed according to the Patent Cooperation Treaty	
0-6	**Receiving Office (specified by the applicant)**	United States Patent and Trademark Office (USPTO) (RO/US)
0-7	**Applicant's or agent's file reference**	CEN5144WOPCT
I	**Title of Invention**	HUMAN GLP-1 MIMETIBODIES, COMPOSITIONS, METHODS AND USES
II	**Applicant**	
II-1	This person is	applicant only
II-2	Applicant for	all designated States except US
II-4	Name	CENTOCOR, INC.
II-5	Address	200 Great Valley Parkway Malvern, Pennsylvania 19355 United States of America
II-6	State of nationality	US
II-7	State of residence	US
II-8	Telephone No.	732 524-3385
II-9	Facsimile No.	732 524-2808
II-10	e-mail	yren5@corus.jnj.com

PCT REQUEST

Original (for **SUBMISSION**)

III-1	**Applicant and/or inventor**	
III-1-1	This person is	applicant and inventor
III-1-2	Applicant for	US only
III-1-4	Name (LAST, First)	O'NEIL, Karyn T.
III-1-5	Address	601 Beatty Road Media, Pennsylvania 19063 United States of America
III-1-6	State of nationality	US
III-1-7	State of residence	US
III-2	**Applicant and/or inventor**	
III-2-1	This person is	applicant and inventor
III-2-2	Applicant for	US only
III-2-4	Name (LAST, First)	PICHA, Kristen
III-2-5	Address	2065 Yellow Springs Road Malvern, Pennsylvania 19355 United States of America
III-2-6	State of nationality	US
III-2-7	State of residence	US
IV-1	**Agent or common representative; or address for correspondence**	
	The person identified below is hereby/ has been appointed to act on behalf of the applicant(s) before the competent International Authorities as:	agent
IV-1-1	Name (LAST, First)	JOHNSON, Philip S.
IV-1-2	Address	JOHNSON & JOHNSON One Johnson & Johnson Plaza New Brunswick, New Jersey 08933 United States of America
IV-1-3	Telephone No.	732 524-3385
IV-1-4	Facsimile No.	732 524-2808
IV-1-5	e-mail	yren5@corus.jnj.com
IV-1-6	Agent's registration No.	27200
V	**DESIGNATIONS**	
V-1	**The filing of this request constitutes under Rule 4.9(a), the designation of all Contracting States bound by the PCT on the international filing date, for the grant of every kind of protection available and, where applicable, for the grant of both regional and national patents.**	

PCT REQUEST

Original (for **SUBMISSION**)

VI-1	**Priority claim of earlier national application**		
VI-1-1	Filing date	18 July 2006 (18.07.2006)	
VI-1-2	Number	60/831,704	
VI-1-3	Country	US	
VI-2	**Priority document request** The receiving Office is requested to prepare and transmit to the International Bureau a certified copy of the earlier application(s) identified above as item(s):	VI-1	
VI-3	**Incorporation by reference :** where an element of the international application referred to in Article 11(1)(iii)(d) or (e) or a part of the description, claims or drawings referred to in Rule 20.5(a) is not otherwise contained in this international application but is completely contained in an earlier application whose priority is claimed on the date on which one or more elements referred to in Article 11(1)(iii) were first received by the receiving Office, that element or part is, subject to confirmation under Rule 20.6, incorporated by reference in this international application for the purposes of Rule 20.6.		
VII-1	**International Searching Authority Chosen**	European Patent Office (EPO) (ISA/EP)	
VIII	**Declarations**	Number of declarations	
VIII-1	Declaration as to the identity of the inventor	–	
VIII-2	Declaration as to the applicant's entitlement, as at the international filing date, to apply for and be granted a patent	–	
VIII-3	Declaration as to the applicant's entitlement, as at the international filing date, to claim the priority of the earlier application	–	
VIII-4	Declaration of inventorship (only for the purposes of the designation of the United States of America)	–	
VIII-5	Declaration as to non-prejudicial disclosures or exceptions to lack of novelty	–	

PCT REQUEST

Original (for **SUBMISSION**)

IX	Check list	number of sheets	electronic file(s) attached
IX-1	Request (including declaration sheets)	4	✓
IX-2	Description	151	–
IX-3	Claims	11	–
IX-4	Abstract	1	✓
IX-5	Drawings	27	–
IX-7	TOTAL	194	
	Accompanying Items	paper document(s) attached	electronic file(s) attached
IX-8	Fee calculation sheet	✓	–
IX-17	PCT-SAFE physical media	–	✓
IX-19	**Figure of the drawings which should accompany the abstract**	FIG. 23C	
IX-20	**Language of filing of the international application**	English	
X-1	**Signature of applicant, agent or common representative**	/Yunling Ren/	
X-1-1	Name	CENTOCOR, INC.	
X-1-2	Name of signatory	Yunling Ren	
X-1-3	Capacity	Proxy Holder	

FOR RECEIVING OFFICE USE ONLY

18-07-2007

10-1	**Date of actual receipt of the purported international application**	18 JULY 2007
10-2	**Drawings:**	
10-2-1	Received	
10-2-2	Not received	
10-3	**Corrected date of actual receipt due to later but timely received papers or drawings completing the purported international application**	
10-4	**Date of timely receipt of the required corrections under PCT Article 11(2)**	
10-5	**International Searching Authority**	ISA/EP
10-6	**Transmittal of search copy delayed until search fee is paid**	

FOR INTERNATIONAL BUREAU USE ONLY

11-1	**Date of receipt of the record copy by the International Bureau**	

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT ON PATENTABILITY

(Chapter I of the Patent Cooperation Treaty)

(PCT Rule 44*bis*)

Applicant's or agent's file reference CEN5144WOPCT	**FOR FURTHER ACTION**	See item 4 below
International application No. PCT/US2007/073752	International filing date *(day/month/year)* 18 July 2007 (18.07.2007)	Priority date *(day/month/year)* 18 July 2006 (18.07.2006)
International Patent Classification (8th edition unless older edition indicated) See relevant information in Form PCT/ISA/237		
Applicant CENTOCOR, INC.		

1. This international preliminary report on patentability (Chapter I) is issued by the International Bureau on behalf of the International Searching Authority under Rule 44 *bis*.1(a).

2. This REPORT consists of a total of 10 sheets, including this cover sheet.

   In the attached sheets, any reference to the written opinion of the International Searching Authority should be read as a reference to the international preliminary report on patentability (Chapter I) instead.

3. This report contains indications relating to the following items:

☒	Box No. I	Basis of the report
☐	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 Article 35(2) 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

4. The International Bureau will communicate this report to designated Offices in accordance with Rules 44*bis*.3(c) and 93*bis*.1 but not, except where the applicant makes an express request under Article 23(2), before the expiration of 30 months from the priority date (Rule 44*bis* .2).

	Date of issuance of this report 20 January 2009 (20.01.2009)
The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland Facsimile No. +41 22 338 82 70	Authorized officer Yoshiko Kuwahara e-mail: pt07.pct@wipo.int

Form PCT/IB/373 (January 2004)

PATENT COOPERATION TREATY

From the
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

To:

see form PCT/ISA/220

PCT

WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY
(PCT Rule 43*bis*.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.	International filing date *(day/month/year)*	Priority date *(day/month/year)*
PCT/US2007/073752	18.07.2007	18.07.2006

International Patent Classification (IPC) or both national classification and IPC
INV. C07K14/605 C07K16/00

Applicant
CENTOCOR, INC.

1. This opinion contains indications relating to the following items:

- ☒ Box No. I Basis of the opinion
- ☐ Box No. II Priority
- ☒ Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- ☐ Box No. IV Lack of unity of invention
- ☒ Box No. V Reasoned statement under Rule 43*bis*.1(a)(i) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- ☐ Box No. VI Certain documents cited
- ☐ Box No. VII Certain defects in the international application
- ☒ Box No. VIII Certain observations on the international application

2. **FURTHER ACTION**

If a demand for international preliminary examination is made, this opinion will 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 notifed the International Bureau under Rule 66.1*bis*(b) that written opinions of this International Searching Authority will not be so considered.

If this opinion is, as provided above, considered to be a written opinion of the IPEA, the applicant is invited to submit to the IPEA a written reply together, where appropriate, with amendments, before the expiration of 3 months from the date of mailing of Form PCT/ISA/220 or before the expiration of 22 months from the priority date, whichever expires later.

For further options, see Form PCT/ISA/220.

3. For further details, see notes to Form PCT/ISA/220.

Name and mailing address of the ISA:	Date of completion of this opinion	Authorized Officer
European Patent Office D-80298 Munich Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465	see form PCT/ISA/210	Petri, Bernhard Telephone No. +49 89 2399-7356

Form (PCT/ISA/237) (Cover Sheet) (April 2005)

WRITTEN OPINION OF THE INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

International application No.
PCT/US2007/073752

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. ☐ This opinion has been established taking into account the **rectification of an obvious mistake** authorized by or notified to this Authority under Rule 91 (Rule 43bis.1(a))

3. 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.

4. ☒ 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.

5. Additional comments:

   see separate sheet

Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability

The questions whether the claimed invention appears to be novel, to involve an inventive step (to be non obvious), or to be industrially applicable have not been examined in respect of

☐ the entire international application

☒ claims Nos. 1-3 (in part); 4, 7-17

because:

☐ the said international application, or the said claims Nos. relate to the following subject matter which does not require an international search *(specify)*:

☒ the description, claims or drawings *(indicate particular elements below)* or said claims Nos. 1-3 (in part) are so unclear that no meaningful opinion could be formed *(specify)*:

see separate sheet

☒ the claims, or said claims Nos. 1-3 (in part) 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. 4, 7-17

☐ a meaningful opinion could not be formed without the sequence listing; the applicant did not, within the prescribed time limit:

☐ furnish a sequence listing on paper complying with the standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions, and such listing was not available to the International Searching Authority in a form and manner acceptable to it.

☐ furnish a sequence listing in electronic form complying with the standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions, and such listing was not available to the International Searching Authority in a form and manner acceptable to it.

☐ pay the required late furnishing fee for the furnishing of a sequence listing in response to an invitation under Rules 13*ter*.1(a) or (b).

☐ a meaningful opinion could not be formed without the tables related to the sequence listings; the applicant did not, within the prescribed time limit, furnish such tables in electronic form complying with the technical requirements provided for in Annex C-*bis* of the Administrative Instructions, and such tables were not available to the International Searching Authority in a form and manner acceptable to it.

☐ the tables related to the nucleotide and/or amino acid sequence listing, if in electronic form only, do not comply with the technical requirements provided for in Annex C-*bis* of the Administrative Instructions.

☒ See Supplemental Box for further details

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

1. Statement

Novelty (N)	Yes:	Claims	1-3, 5-6, 18-38
	No:	Claims	
Inventive step (IS)	Yes:	Claims	
	No:	Claims	1-3, 5-6, 18-38
Industrial applicability (IA)	Yes:	Claims	1-3, 5-6, 18-38
	No:	Claims	

2. Citations and explanations

see separate sheet

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

Re Item I

Basis of the report

Submission as filed with letter dated 31.01.2008 have not been taken into account. These amendments cannot be allowed neither under Rule 26 PCT nor under Rule 91 PCT. In view of the substantial nature the amendments (e.g. amino acid changes) it is unlikely that such amendments will be allowed later in the proceedings under Article 19 PCT or 34 PCT.

Re Item III

Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability

The present application contains 38 claims, of which at least 18 are independent directed each at GLP1 CH1 deleted mimetibody polypeptides. There is no clear distinction between the independent claims because of overlapping scope. In view of this multitude of independent claims of largely overlapping scope, further in view of the many permutations and alternatives within each of said independent claims (i.e. claims 4, 7-17), and in view of the fact that they are drafted in such a way that the claims as a whole are not in compliance with the provisions of clarity and conciseness of Article 6 PCT, as it is particularly burdensome for a skilled person to establish the subject-matter for which protection is sought. The non-compliance with the substantive provisions is to such an extent, that the search was performed taking into consideration the non-compliance in determining the extent of the search (PCT Guidelines 9.19 and 9.25).

The search was based on the subject-matter that, as far as can be understood, could reasonably be expected to be claimed later in the procedure, and the corresponding claims, namely claim 1 and 2 dependent claim 3 (and identical claims 5/6) directed at GLP-1 mimetibody nucleic acids, comprising coding regions encoding Seq.Id.Nos. 2, 4, 6, 7-14 and subject matter directly relating thereto (i.e. claims 18-38 in part).

Concerning subject-matter in relation to Seq.Id.Nos. 2 and 6 no meaningfull search was possible for these sequences either. Both sequences refer to GLP-1 and GLP-1

mimetibody in the form of markush type formulations. In fact, the part of these sequences specifying the GLP-1 part, contain so many alternatives and possible permutations, that the plethora of resulting possible GLP-1 variants far exeeds what reasonable can be expected to relate to subject-matter that is clear, concise and supported as required by Article 6 PCT. In fact a preliminary attempt to establish the relevant prior art with respect to the GLP-1 part produced so many documents possibly relevant that the ISA is not in the position to make a reasonable selection in view of the possibilities to determine which actual sequences may be said to define subject-matter for which protection might legitimately be sought (Article 6 PCT). For these reasons, the search was performed, taking into consideration the non-compliance in determining the extent of the search, for subject-matter in relation to Sequences 4, 7-14.

In addition, the following inconsistencies, were noticed:

Seq.Id.No. 2 has variable positions at 10, 11, 12, 19, 24, 27 and 44 (Xaa in sequence as of page 99). Inconsistencies however between the feature keys in the header i.e. <222> and the positions indicated Xaa in the body of sequence 2 make it impossible to determine subject matter which should be the subject of the search. Inconsistencies are observed concerning positions 11, 12, and 14. No other definition of sequence 2 has been found in the description.

Seq.Id.No. 6 is defined at page 107-109 and in paragraph [0112] of the description. On page 107-109 sequence 6 is defined variable at positions 2-3, 5-10, 12-14, 16-19, 21, 23-24, 27-28, 30. In paragraph [0112] positions 2-3, 6-10, 12, 14, 16-19, 21, 23, 27-28, 30 are declared variable. In the header of the SEQL discrepancy is observed concerning position 5. A further discrepancy is observed concerning position 6 which is specifiied in the SEQL to be either F,H,W,Y, whereas in paragraph [0112] it is either F or Y.

None of the above discrepancies can be interpreted as an obvious error. It is to be expected that removal of these inconsistencies would require mixing of individual features resulting in substantial changes to the subject-matter beyond what has been disclosed originally. In view of this the ISA was not in a position to make reasonable assumptions on what could be expected to be the subject later in the procedure and therefore no

reasonable search was possible for subject-matter in relation to Seq.Id.Nos. 2 and 6.

Also for these reasons, the search has been restricted to subject-matter in relation to Seq.Id.Nos. 4, 7-14.

No international search was carried out for claims 4-17. As a consequently no examination will be carried out for those parts of the application which were not searched (Rule 66.1(e) PCT).

In view of the preliminary nature of the proceedings and in view of the present unclarities concerning the technical problem and its solution (see below item V), unity of invention has not been analysed. However, the applicant must be aware, in view of the apparent complexity and heterogeniety of the application, that an objection as to the lack of unity can be formulated at later stages of the proceedings.

Re Item V & Re Item VIII
Reasoned statement with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement and Certain observations on the international application

Reference is made to the following document/s/:

D1: EP-A-1 559 724 (SANWA KAGAKU KENKYUSHO CO [JP]) 3 August 2005 (2005-08-03)

D2: WO 2005/097175 A (CENTOCOR INC [US]; O'NEIL KARYN [US]; PICHA KRISTEN [US]) 20 October 2005 (2005-10-20)

D3: WO 01/98331 A (LILLY CO ELI [US]; GLAESNER WOLFGANG [US]; MILLICAN ROHN LEE [US]) 27 December 2001 (2001-12-27)

D4: EP-A-1 408 050 (SHANGHAI HUA YI BIO TECH LAB [CN]) 14 April 2004 (2004-04-14)

D5: WO 2004/002424 A (CENTOCOR INC [US]) 8 January 2004 (2004-01-08)

Sequences 4, 7-14 all relate to GLP-1 (7-36) variants characterized by substitution E24A corresponding to position 30 of GLP-1. Sequences 4, 7-11, 14 additionally relate to substitution N44V in the variable region of the mimetibody scaffold. Sequences 4, 7-13 additional have substitutions at position 2 (8); Sequences 4, 7, 12-13 relate to serine substitutions (S2A); Sequences 8, 11 relate to G2A, V2A, respectively;
Sequences 9, 10 relate to D2A, T2A, respectively;

The ISA was unable to identify any disclosure other than concerning Sequence 4. In particular no disclosure of a technical effect with respect to the glutamic acid substitution at position 24(30) could be found nor with the change from an O-linked to an N-linked glycosylation site at position 44.

The general mimetibody scaffold is known (D5). The mimetibody platform has already been applied to GLP-1 (D2). Starting from this prior art basis, the current application seem to diverge in several directions. On the one hand several GLP-1 variants have been disclosed i.e. E24A and variants at position 2, whereas on the other hand a second concept seem to relate at the introduction of an N-linked glycosylation site at the variable module of the mimetibody scaffold.

The following consideration regarding the individual mutations apply.

Substitutions D2A/T2A (Seq. 9/10) are formally novel.
Substitutions N/Q44V (Seq. 4, 7-11, 14) are formally novel.
Substitution S2A is known (Seq. 4/7/12/13) even in the context of mimetibodies (D2) but not in combination with E21A.
Substitution E21A is known (D4).
Substitutions G2A/V2A E21A are known (D3).
The particular N-linked glycosylation site at position 44 is also formally novel.

The feature "further comprising at least one N-linked glycosylation site" (claims 1-3) in absence of further specification is unsuitable to establish novelty. This feature relates to the mere presence of the following motiv N/QXS/T/C which is the sequon for N-linked glycosylation. This motif is inter alia present in Seq. 43, 45, 60-64 of D2.

The formulation "At least one GLP-1 CH1 ..." is unclear. In the context of a product claim directed at a chemical entity the actual amount of the entity is irrelevant. Such feature are technically meaningfull only in the context of a composition claim. Thus its inclusion renders doubt on the scope of said claim.

In absence of any recognizable technical effect to be associated with the claimed substitutions, such substitutions cannot contribute to inventive step.