SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO8

No. 13-275627- -00000-0000

Fecha: 2013-11-22 17:04:46 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 4

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

No. 11-108185- -00016-0000

Fecha: 2013-11-22 17:04:46 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 851 DIVISIONAL Folios: 4

Industria y Com
SUPERINTENDE

SOLICITUD

PATENTE DE INVENCIÓN

21. EXPEDIENTE No. _____

54. TÍTULO **"TRATAMIENTO DE TRASTORNOS RESISTENTES A INSULINA"**

51. CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL **A61K 39/395**

71. SOLICITANTE **GENENTECH, INC.**

DOMICILIO SOUTH SAN FRANCISCO, ESTADO DE CALIFORNIA, ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA

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

22. BOGOTÁ, D.C. 22 NOV 2013

(FORMA P 10)

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO8
No. 13-275627- -00000-0000
Fecha: 2013-11-22 17:04:46 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 4

DIRECCIÓN DE NUEVA
CONVERSIÓN, DIVISIÓN Y FU

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 11-108185- -00016-0000
Fecha: 2013-11-22 17:04:46 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 851 DIVISIONAL Folios: 4

1. Identificación del Trámite

☐ **Conversión** ☒ **División** ☐ **Fusión**

☒ Patente de Invención
☐ Patente de Modelo de Utilidad
☐ Registro de Diseño Industrial
☐ Esquema de Trazado de Circuitos Integrados

2. Datos del Solicitante:

Persona Natural ☐ Persona Jurídica ☒

GENENTECH, INC.
Nombre o Denominación / Nombre o Razón Social Completa

ALICIA LLOREDA RICAURTE
Nombre Representante Legal

Tipo de Empresa: Micro ☐ Pequeña ☐ Mediana ☐ Otra ☒

Documento de Identificación: ☒ C.C. ☐ C.E. ☐ NIT ☐ Otro Número **39.690.713**

Nacionalidad / País de Constitución	Dirección y Domicilio del Titular	Ciudad
Estado de Delaware, Estados Unidos de América	1 DNA Way, South San Francisco, CA 94080, Estados Unidos de América	South San Francisco

Dirección Electrónica	Fax	Número Telefónico
notificacionespatentes@lloredacamacho.com	6069701	3264270

☒ **Autorizo expresamente a la Superintendencia de Industria y Comercio para que todas las comunicaciones sean enviadas a través de la dirección de correo electrónico**

3. Datos del Apoderado:

LLOREDA RICAURTE ALICIA	C.C. 39.690.713	53.215
Apellidos y Nombre	Documento de Identificación	Tarjeta Profesional

Dirección y Domicilio		Ciudad
Calle 72 No. 5-83 Piso 5º		Bogotá D.C.
Dirección Electrónica	**No. Fax**	**Número Telefónico**
notificacionespatentes@lloredacamacho.com	6069701	3264270

En caso de haber presentado poder general para asuntos que se adelanten ante la Delegatura de Propiedad Industrial, sírvase indicar el número de su radicación o protocolo de poder general _____

4. Datos del Trámite

CONVERSIÓN	DIVISIÓN	FUSIÓN
Expediente	**Expediente**	**Expediente**
	11-108.185	
De:	De: 11-108.185	De:
A:	A: 11-108.185A	A:

5. Comprobante de Pago No. 13-0089963 **Fecha:** 9 de Septiembre de 2013

6. Anexos

- ☒ Comprobante de pago de la tasa para la presentación de la corrección y/o modificación.
- ☐ Poder, si fuere el caso con el que se acredita la representación.
- ☐ Número de documento que ordena la comisión o fusión o división.
- ☐ Documento que contiene la conversión, división o fusión de la solicitud.
- ☐ Copia de la solicitud y sus anexos en formato magnético

7. Firma

ALICIA LLOREDA RICAURTE		
Nombre y apellidos	Representante Apoderado	Firma
C.C. 39.690.713 de Usaquén		**53.215**
Identificación		Tarjeta Profesional

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

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

RECIBO DE CAJA

No. 13 - 0089963

Bogotá D.C., Septiembre 09 de 2013 - 16:31:47

RECIBIDO DE : LLOREDA & CIA. S.A. NI 830.022.145

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	590199094	09/09/2013	12.637.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr.UNDITARIO	Vr.CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	2205 DIVISIONAL SOLICITUD DE PATENTE DE INVENCION CONT. DERE	450.000.00	450.000.00
				$450.000.00

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

Responsable: _____
-*****-

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO8

No. 13-275627- -00000-0000

Fecha: 2013-11-22 17:04:46 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 4

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

No. 11-108185- -00016-0000

Fecha: 2013-11-22 17:04:46 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 851 DIVISIONAL Folios: 4

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

7

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

RECIBO DE CAJA

No. 13 - 114264

Bogotá D.C., Noviembre 12 de 2013 - 16:57:20

RECIBIDO DE : LLOREDA & CIA. S.A. NI 830.022.145

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR.PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	433561855	12/11/2013	19.570.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT. RENTISTICO	CONCEPTO	Vr.UNDITARIO	Vr.CONCEPTO
10 50005-01-01 SOLICITUDES	1607 REIVINDICACION PATENTE UNITARIA ADICIONAL A LAS 10 INIC	30.000.00	300.000.00
			$300.000.00

SON: **TRESCIENTOS MIL PESOS MONEDA CORRIENTE***

Responsable: _____
-********-

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO8

No. 13-275627- -00000-0000

Fecha: 2013-11-22 17:04:46 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 4

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

No. 11-108185- -00016-0000

Fecha: 2013-11-22 17:04:46 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 851 DIVISIONAL Folios: 4

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

4

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

RECIBO DE CAJA

No. 13 - 103989

Bogotá D.C., Octubre 15 de 2013 - 13:32:29

RECIBIDO DE : LLOREDA & CIA. S.A. NI 830.022.145

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	590199002	15/10/2013	15.653.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr.UNDITARIO	Vr.CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	1607 REIVINDICACION PATENTE UNITARIA ADICIONAL A LAS 10 INIC	30.000.00	30.000.00
				$30.000.00

SON: **TREINTA MIL PESOS MONEDA CORRIENTE*

Responsable: _____

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 13-275627- -00000-0000
Fecha: 2013-11-22 17:04:46 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 4

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 11-108185- -00016-0000
Fecha: 2013-11-22 17:04:46 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 851 DIVISIONAL Folios: 4

Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA	PLANILLA DE RADICACIÓN - DIGITALIZACIÓN DIARIA *RELACIÓN DE ANEXOS*	
Dependencia: 2020	Fecha: 13 / 11 / 22 / AAAA MM DD	Recorrido: 3
Tipo de Radicación: Entrada: X Salida: ☐ Traslado: ☐ Convenio: ☐		
Radicador:		Planilla:

ID	*No. Radicación*	*Consecutivo*	*Item*
1	11-108185-	16	7
2	13-275627-	0	7
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			
11			
12			
13			
14			
15			
16			
17			

Item	*Unidad de Conservación*
1	Bolsa
2	Caja
3	Libro
4	Sobre
5	Tomo
6	Otro
Item	*Soporte Documental*
X	CD
8	Disquete
9	DVD
10	Folleto
11	Foto
12	Periódico
13	Plano
14	Publicación Periódica
15	USB
16	Otro

Observaciones:

EL C.D ANEXO CONTIENE UN TOTAL DE 8 ARCHIVOS. 8 EN FORMATO P.D.F, LOS CUALES FUERON PROCESADOS.

CE

NM_002190 (GenBank)
ORIGEN

```
       1 gcaggcacaa actcatccat ccccagttga ttggaagaaa caacgatgac tcctgggaag
      61 acctcattgg tgtcactgct actgctgctg agcctggagg ccatagtgaa ggcaggaatc
     121 acaatcccac gaaatccagg atgcccaaat tctgaggaca agaacttccc ccggactgtg
     181 atggtcaacc tgaacatcca taaccggaat accaatacca atcccaaaag gtcctcagat
     241 tactacaacc gatccacctc accttggaat ctccaccgca atgaggaccc tgagagatat
     301 ccctctgtga tctgggaggc aaagtgccgc cacttgggct gcatcaacgc tgatgggaac
     361 gtggactacc acatgaactc tgtccccatc cagcaagaga tcctggtcct gcgcagggag
     421 cctccacact gccccaactc cttccggctg gagaagatac tggtgtccgt gggctgcacc
     481 tgtgtcaccc cgattgtcca ccatgtggcc taagagctct ggggagccca cactccccaa
     541 agcagttaga ctatggagag ccgacccagc ccctcaggaa ccctcatcct tcaaagacag
     601 cctcatttcg gactaaactc attagagttc ttaaggcagt ttgtccaatt aaagcttcag
     661 aggtaacact tggccaagat atgagatctg aattaccttt ccctctttcc aagaaggaag
     721 gtttgactga gtaccaattt gcttcttgtt tacttttta agggctttaa gttatttatg
     781 tatttaatat gccctgagat aactttgggg tataagattc cattttaatg aattacctac
     841 tttatttgt ttgtcttttt aaagaagata agattctggg cttgggaatt ttattattta
     901 aaaggtaaaa cctgtattta tttgagctat ttaaggatct atttatgttt aagtatttag
     961 aaaaaggtga aaaagcacta ttatcagttc tgcctaggta aatgtaagat agaattaaat
    1021 ggcagtgcaa aatttctgag tctttacaac atacggatat agtatttcct cctctttgtt
    1081 tttaaaagtt ataacatggc tgaaaagaaa gattaaacct actttcatat gtattaattt
    1141 aaattttgca atttgttgag gttttacaag agatacagca agtctaactc tctgttccat
    1201 taaaccctta taataaaatc cttctgtaat aataaagttt caaaagaaaa tgtttatttg
    1261 ttctcattaa atgtatttta gcaaactcag ctcttcccta ttgggaagag ttatgcaaat
    1321 tctcctataa gcaaaacaaa gcatgtcttt gagtaacaat gacctggaaa tacccaaaat
    1381 tccaagttct cgatttcaca tgccttcaag actgaacacc gactaaggtt ttcatactat
    1441 tagccaatgc tgtagacaga agcattttga taggaataga gcaaataaga taatggccct
    1501 gaggaatggc atgtcattat taaagatcat atggggaaaa tgaaaccctc cccaaaatac
    1561 aagaagttct gggaggagac attgtcttca gactacaatg tccagtttct cccctagact
    1621 caggcttcct ttggagatta aggcccctca gagatcaaca gaccaacatt tttctcttcc
    1681 tcaagcaaca ctcctagggc ctggcttctg tctgatcaag gcaccacaca acccagaaag
    1741 gagctgatgg ggcagaacga actttaagta tgagaaaagt tcagcccaag taaaataaaa
    1801 actcaatcac attcaattcc agagtagttt caagtttcac atcgtaacca ttttcgccc
```

FIGURA 1
(SEQ. ID NO:1)

```
NP_002181 (GenBank)
 ORIGEN
        1 mtpgktslvs llllllsleai vkagitiprn pgcpnsedkn fprtvmvnln ihnrntntnp
       61 krssdyynrs tspwnlhrne dperypsviw eakcrhlgci nadgnvdyhm nsvpiqqeil
      121 vlrrepphcp nsfrlekilv svgctcvtpi vhhva
```

FIGURA 2
(SEQ. ID NO:2)

leu> getseq **sst.DNA166819**
AGCCACCAGCGCAAC**ATG**ACAGTGAAGACCCTGCATGGCCCAGCCATGGTCAAGTACTTG
CTGCTGTCGATATTGGGGCTTGCCTTTCTGAGTGAGGCGGCAGCTCGGAAAATCCCCAAA
GTAGGACATACTTTTTTCCAAAAGCCTGAGAGTTGCCCGCCTGTGCCAGGAGGTAGTATG
AAGCTTGACATTGGCATCATCAATGAAAACCAGCGCGTTTCCATGTCACGTAACATCGAG
AGCCGCTCCACCTCCCCCTGGAATTACACTGTCACTTGGGACCCCAACCGGTACCCCTCG
GAAGTTGTACAGGCCCAGTGTAGGAACTTGGGCTGCATCAATGCTCAAGGAAAGGAAGAC
ATCTCCATGAATTCCGTTCCCATCCAGCAAGAGACCCTGGTCGTCCGGAGGAAGCACCAA
GGCTGCTCTGTTTCTTTCCAGTTGGAGAAGGTGCTGGTGACTGTTGGCTGCACCTGCGTC
ACCCCTGTCATCCACCATGTGCAG**TAA**GAGGTGCATATCCACTCAGCTGAAGAAG

FIGURA 3
(SEQ. ID NO:3)

```
leu> getseq ssp.DNA166819
><Mon Dec  4 09:36:45 2000 DNA166819 [min]
></usr/seqdb2/sst/DNA/Dnaseqs.min/ss.DNA166819
> subunidad 1 de 1, 163 aa, 1 parada
><MW: 18045, pI: 9.28, NX(S/T): 1
MTVKTLHGPAMVKYLLLSILGLAFLSEAAARKIPKVGHTFFQKPESCPPVPGGSMKLDIG
IINENQRVSMSRNIESRSTSPWNYTVTWDPNRYPSEVVQAQCRNLGCINAQGKEDISMNS
VPIQQETLVVRRKHQGCSVSFQLEKVLVTVGCTCVTPVIHHVQ
```

FIGURA 4
(SEQ. ID NO:4)

leu> getseq **sst.DNA164625**

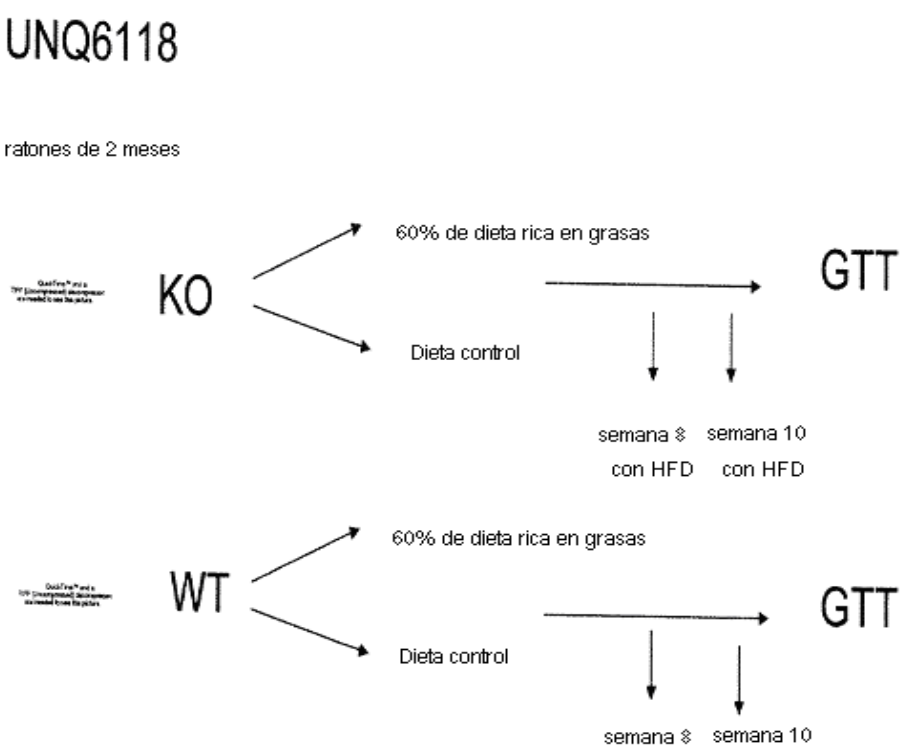
ACACTGGCCAAACAAAAACGAAAGCACTCCGTGCTGGAAGTAGGAGGAGAGTCAGGACTC
CCAGGACAGAGAGTGCACAAACTACCCAGCACAGCCCCCTCCGCCCCCTCTGGAGGCTGA
AGAGGGATTCCAGCCCCTGCCACCCACAGACACGGGCTGACTGGGGTGTCTGCCCCCCTT
GGGGGGGGGCAGCACAGGGCCTCAGGCCTGGGTGCCACCTGGCACCTAGAAG**ATG**CCTGT
GCCCTGGTTCTTGCTGTCCTTGGCACTGGGCCGAAGCCCAGTGGTCCTTTCTCTGGAGAG
GCTTGTGGGGCCTCAGGACGCTACCCACTGCTCTCCGGGCCTCTCCTGCCGCCTCTGGGA
CAGTGACATACTCTGCCTGCCTGGGGACATCGTGCCTGCTCCGGGCCCCGTGCTGGCGCC
TACGCACCTGCAGACAGAGCTGGTGCTGAGGTGCCAGAAGGAGACCGACTGTGACCTCTG
TCTGCGTGTGGCTGTCCACTTGGCCGTGCATGGGCACTGGGAAGAGCCTGAAGATGAGGA
AAAGTTTGGAGGAGCAGCTGACTCAGGGGTGGAGGAGCCTAGGAATGCCTCTCTCCAGGC
CCAAGTCGTGCTCTCCTTCCAGGCCTACCCTACTGCCCGCTGCGTCCTGCTGGAGGTGCA
AGTGCCTGCTGCCCTTGTGCAGTTTGGTCAGTCTGTGGGCTCTGTGGTATATGACTGCTT
CGAGGCTGCCCTAGGGAGTGAGGTACGAATCTGGTCCTATACTCAGCCCAGGTACGAGAA
GGAACTCAACCACACACAGCAGCTGCCTGCCCTGCCCTGGCTCAACGTGTCAGCAGATGG
TGACAACGTGCATCTGGTTCTGAATGTCTCTGAGGAGCAGCACTTCGGCCTCTCCCTGTA
CTGGAATCAGGTCCAGGGCCCCCCAAAACCCCGGTGGCACAAAAACCTGACTGGACCGCA
GATCATTACCTTGAACCACACAGACCTGGTTCCCTGCCTCTGTATTCAGGTGTGGCCTCT
GGAACCTGACTCCGTTAGGACGAACATCTGCCCCTTCAGGGAGGACCCCCGCGCACACCA
GAACCTCTGGCAAGCCGCCCGACTGCGACTGCTGACCCTGCAGAGCTGGCTGCTGGACGC
ACCGTGCTCGCTGCCCGCAGAAGCGGCACTGTGCTGGCGGGCTCCGGGTGGGGACCCCTG
CCAGCCACTGGTCCCACCGCTTTCCTGGGAGAACGTCACTGTGGACAAGGTTCTCGAGTT
CCCATTGCTGAAAGGCCACCCTAACCTCTGTGTTCAGGTGAACAGCTCGGAGAAGCTGCA
GCTGCAGGAGTGCTTGTGGGCTGACTCCCTGGGGCCTCTCAAAGACGATGTGCTACTGTT
GGAGACACGAGGCCCCCAGGACAACAGATCCCTCTGTGCCTTGGAACCCAGTGGCTGTAC
TTCACTACCCAGCAAAGCCTCCACGAGGGCAGCTCGCCTTGGAGAGTACTTACTACAAGA
CCTGCAGTCAGGCCAGTGTCTGCAGCTATGGGACGATGACTTGGGAGCGCTATGGGCCTG
CCCCATGGACAAATACATCCACAAGCGCTGGGCCCTCGTGTGGCTGGCCTGCCTACTCTT
TGCCGCTGCGCTTTCCCTCATCCTCCTTCTCAAAAAGGATCACGCGAAAGGGTGGCTGAG
GCTCTTGAAACAGGACGTCCGCTCGGGGGCGGCCGCCAGGGGCCGCGCGGCTCTGCTCCT
CTACTCAGCCGATGACTCGGGTTTCGAGCGCCTGGTGGGCGCCCTGGCGTCGGCCCTGTG
CCAGCTGCCGCTGCGCGTGGCCGTAGACCTGTGGAGCCGTCGTGAACTGAGCGCGCAGGG
GCCCGTGGCTTGGTTTCACGCGCAGCGGCGCCAGACCCTGCAGGAGGGCGGCGTGGTGGT
CTTGCTCTTCTCTCCCGGTGCGGTGGCGCTGTGCAGCGAGTGGCTACAGGATGGGGTGTC
CGGGCCCGGGGCGCACGGCCCGCACGACGCCTTCCGCGCCTCGCTCAGCTGCGTGCTGCC
CGACTTCTTGCAGGGCCGGGCGCCCGGCAGCTACGTGGGGGCCTGCTTCGACAGGCTGCT
CCACCCGGACGCCGTACCCGCCCTTTTCCGCACCGTGCCCGTCTTCACACTGCCCTCCCA
ACTGCCAGACTTCCTGGGGGCCCTGCAGCAGCCTCGCGCCCCGCGTTCCGGGCGGCTCCA
AGAGAGAGCGGAGCAAGTGTCCCGGGCCCTTCAGCCAGCCCTGGATAGCTACTTCCATCC
CCCGGGGACTCCCGCGCCGGGACGCGGGGTGGGACCAGGGGCGGGACCTGGGGCGGGGGA
CGGGACT**TAA**ATAAAGGCAGACGCTGTTTTTCTAAAAAAA

FIGURA 5
(SEQ. ID NO:5)

```
leu> getseq ssp.DNA164625
><Thu May  3 14:08:16 2001 DNA164625 [min]
></usr/seqdb2/sst/DNA/Dnaseqs.min/ss.DNA164625
>< subunidad 1 de 1,   705 aa, 1 parada
><MW: 76970, pI: 6.00, NX(S/T): 9
MPVPWFLLSLALGRSPVVLSLERLVGPQDATHCSPGLSCRLWDSDILCLPGDIVPAPGPV
LAPTHLQTELVLRCQKETDCDLCLRVAVHLAVHGHWEEPEDEEKFGGAADSGVEEPRNAS
LQAQVVLSFQAYPTARCVLLEVQVPAALVQFGQSVGSVVYDCFEAALGSEVRIWSYTQPR
YEKELNHTQQLPALPWLNVSADGDNVHLVLNVSEEQHFGLSLYWNQVQGPPKPRWHKNLT
GPQIITLNHTDLVPCLCIQVWPLEPDSVRTNICPFREDPRAHQNLWQAARLRLLTLQSWL
LDAPCSLPAEAALCWRAPGGDPCQPLVPPLSWENVTVDKVLEFPLLKGHPNLCVQVNSSE
KLQLQECLWADSLGPLKDDVLLLETRGPQDNRSLCALEPSGCTSLPSKASTRAARLGEYL
LQDLQSGQCLQLWDDDLGALWACPMDKYIHKRWALVWLACLLFAAALSLILLLKKDHAKG
WLRLLKQDVRSGAAARGRAALLLYSADDSGFERLVGALASALCQLPLRVAVDLWSRRELS
AQGPVAWFHAQRRQTLQEGGVVVLLFSPGAVALCSEWLQDGVSGPGAHGPHDAFRASLSC
VLPDFLQGRAPGSYVGACFDRLLHPDAVPALFRTVPVFTLPSQLPDFLGALQQPRAPRSG
RLQERAEQVSRALQPALDSYFHPPGTPAPGRGVGPGAGPGAGDGT
```

FIGURA 6
(SEQ. ID NO:6)

FIGURA 7
Diseño experimental



GTT: la prueba de tolerancia de glucosase efectuó después de toda la noche en ayunas. La glucosa se inyectó ip y se monitoreó el nivel de glucosa sanguínea cada 30 min mediante glucosímetro

FIGURA 8
Resultados de la semana 8 del estudio del modelo de dieta rica en grasas usando ratones IL-17Rc KO

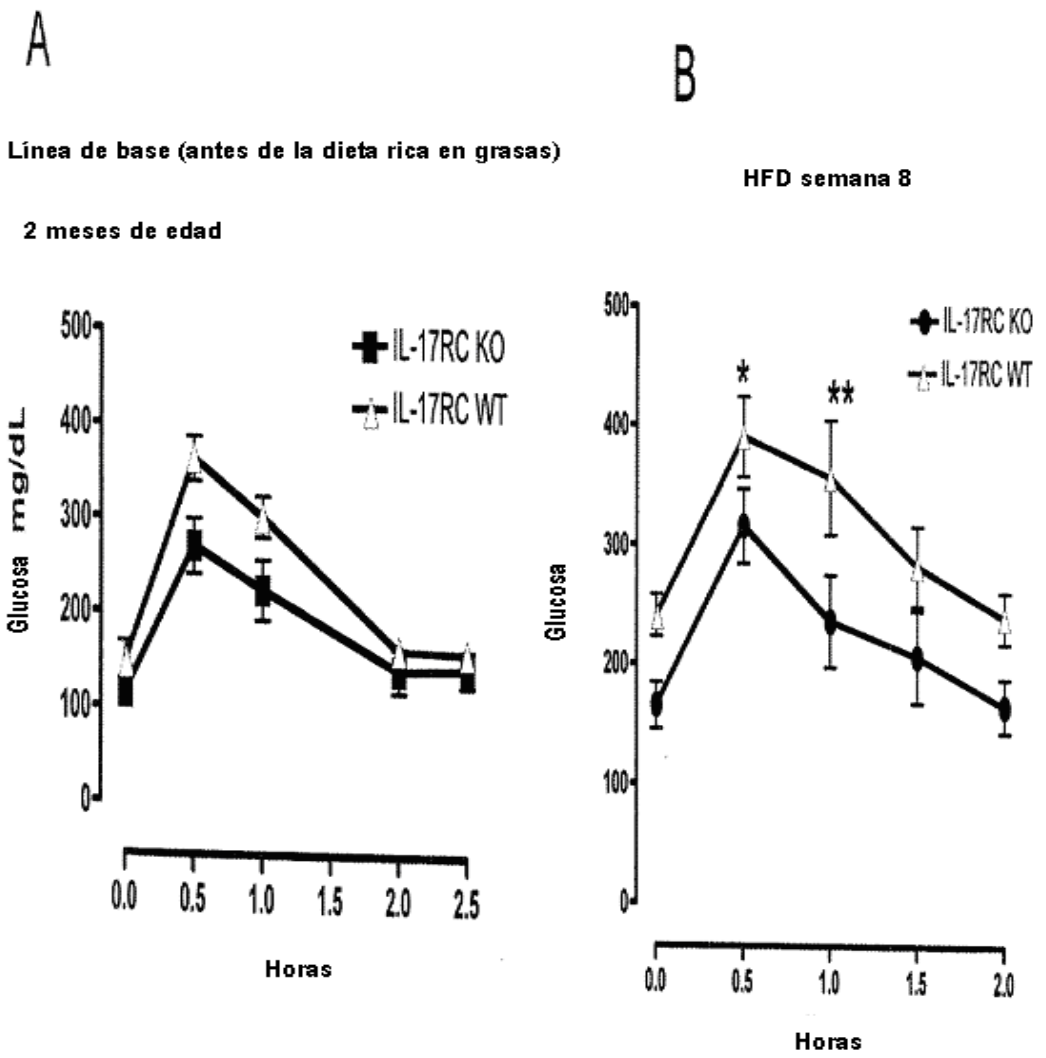


FIGURA 9A
ALIMENTO CONTROL vs ALIMENTO CON DIETA RICA EN GRASAS

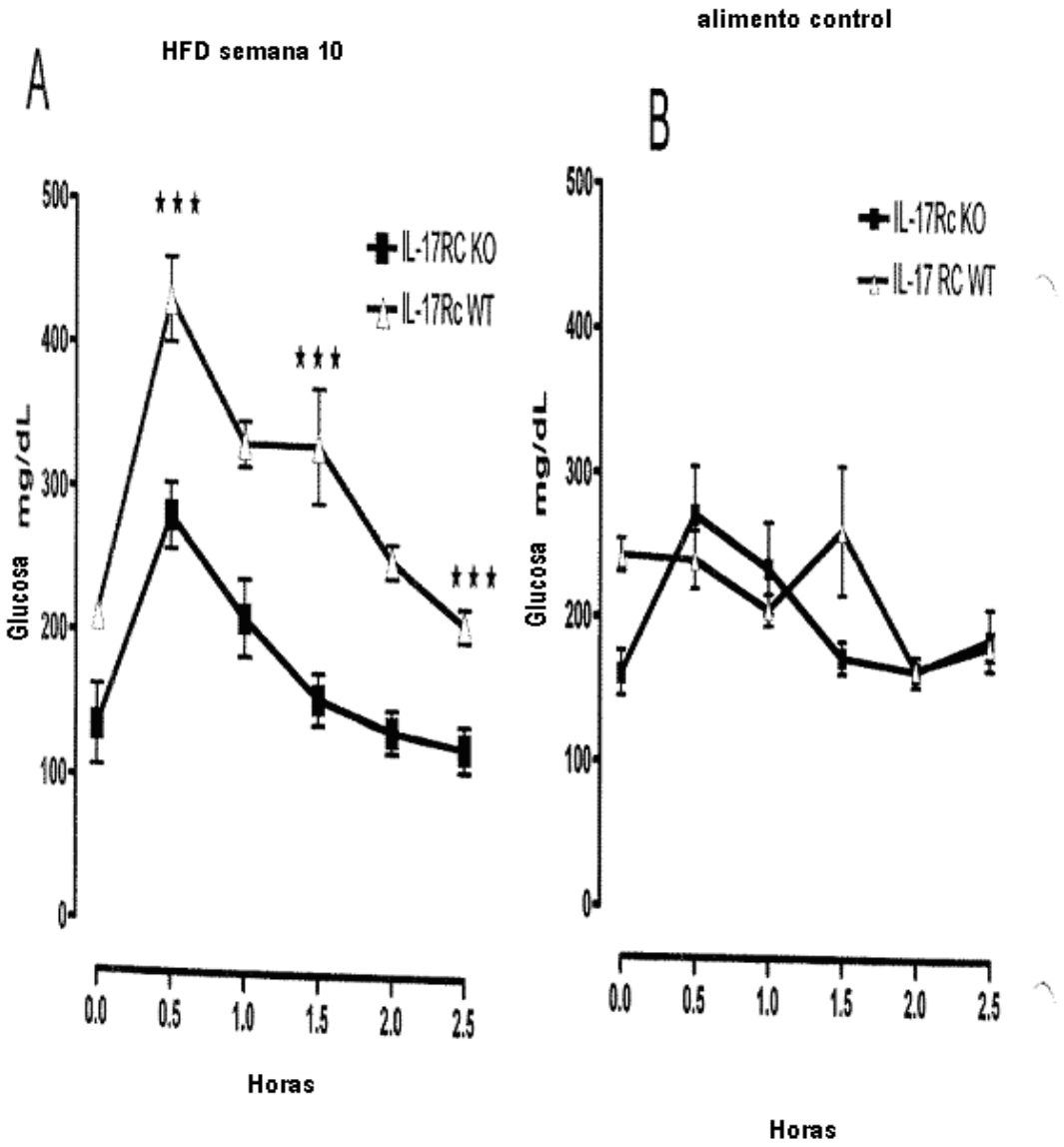


FIGURA 9B
Ratones receptor IL-17 KO resistentes a resistencia a insulina inducida por HFD

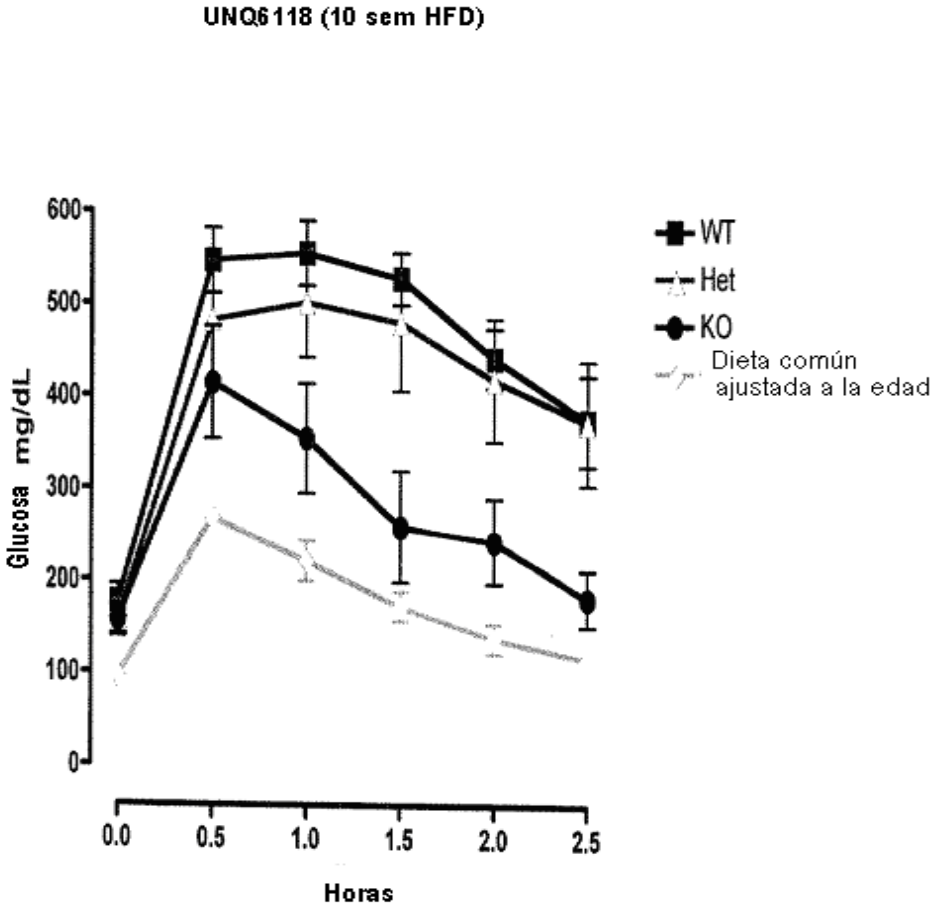


FIGURA 10
ÁREA BAJO LA CURVA

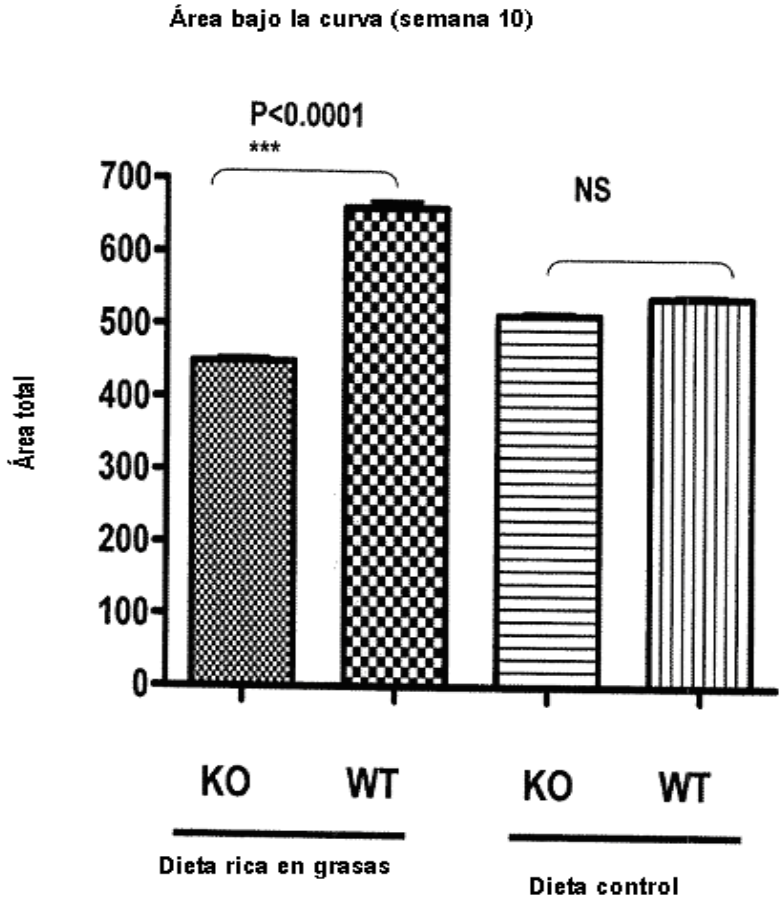


FIGURA 11
PESO CORPORAL

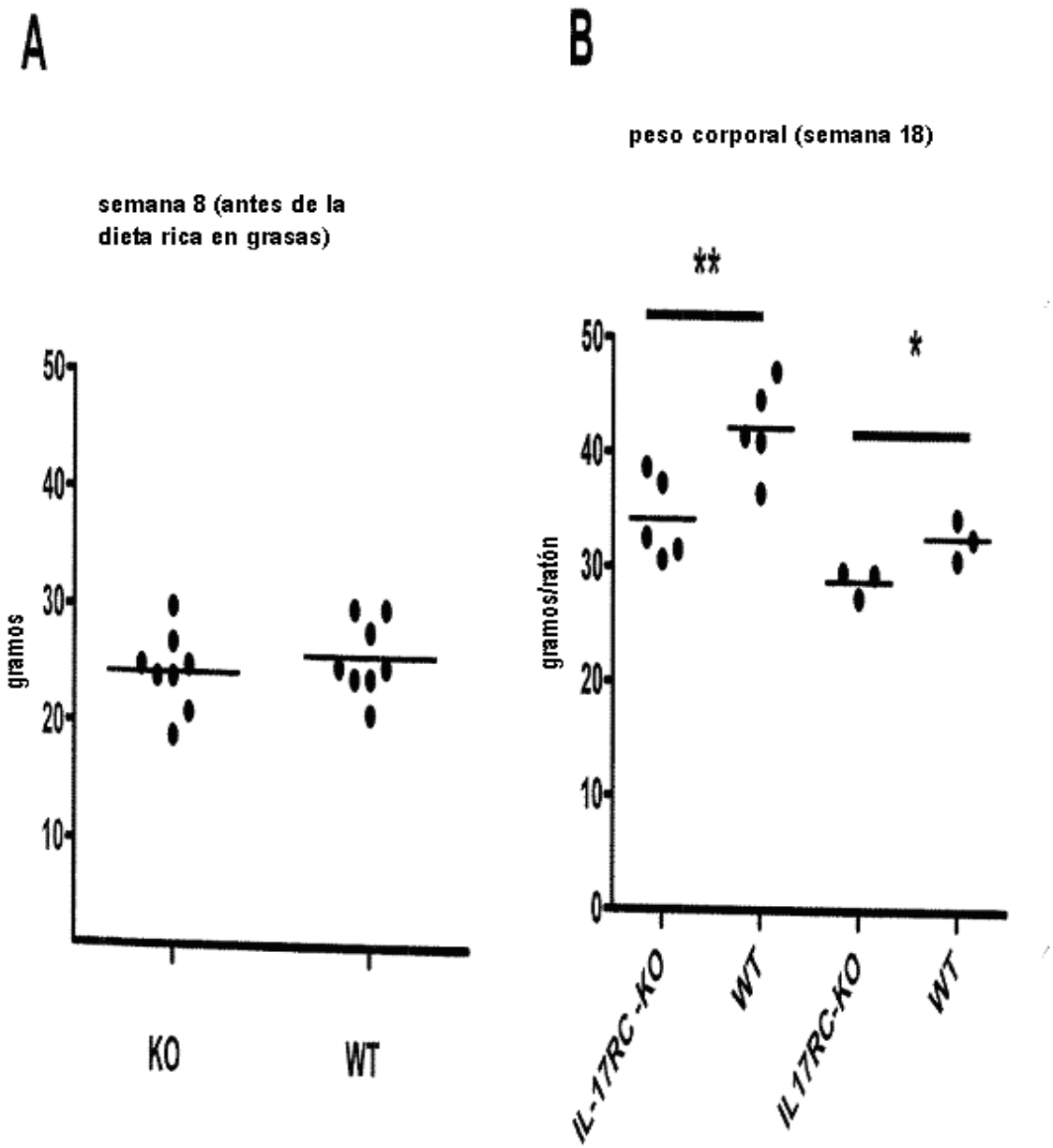
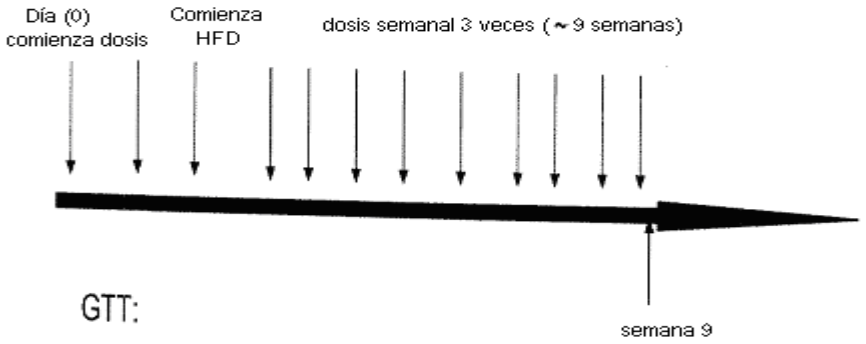


FIGURA 12

Efecto de mAb anti-IL-17 y anti-IL-17F sobre el modelo de dieta HF resistente a insulina



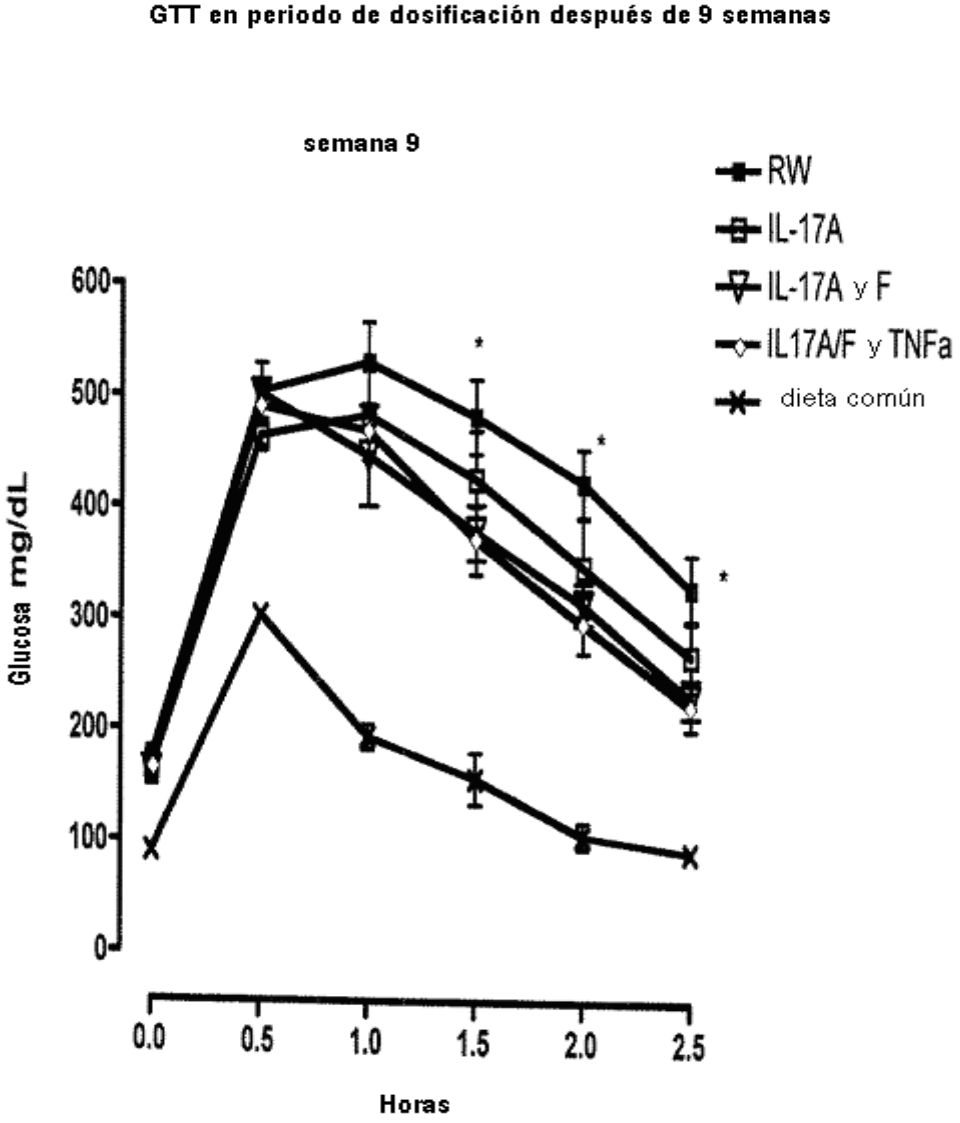


Figura 13: Efecto del tratamiento con ab anti-IL17 sobre el estado resistente a insulina en modelo HFD evaluado por GTT

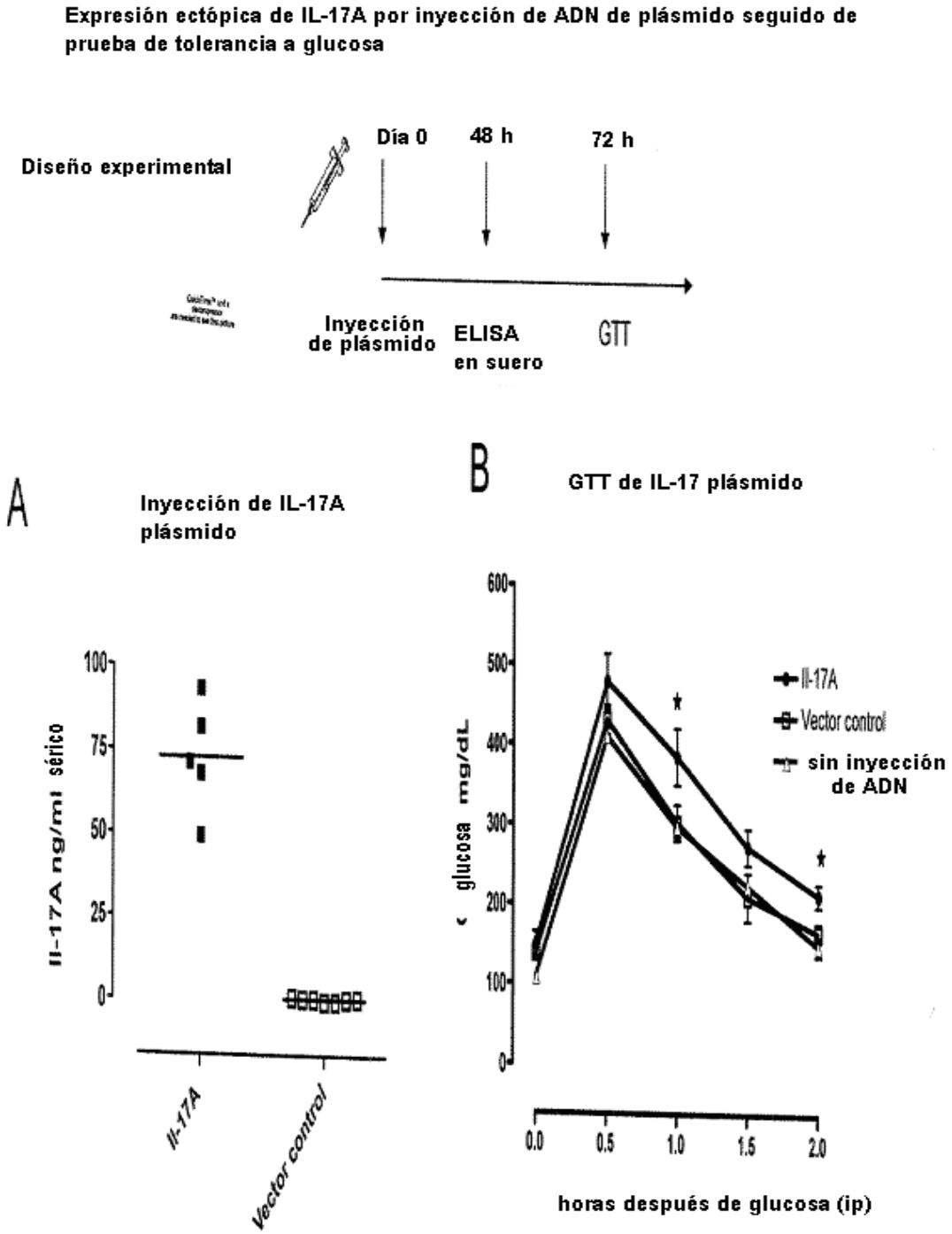


Figura 14: Efecto de la sobreexpresión de IL-17 sobre el estado resistente a insulina evaluado por GTT

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> GENENTECH, INC.

<120> TRATAMIENTO DE TRASTORNOS RESISTENTES A INSULINA

<130> GNE-0344.PCT

<140>
<141>

<150> 61/165,677
<151> 2009-04-01

<160> 6

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 1859
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 1
gcaggcacaa actcatccat ccccagttga ttggaagaaa caacgatgac tcctgggaag 60

acctcattgg tgtcactgct actgctgctg agcctggagg ccatagtgaa ggcaggaatc 120

acaatcccac gaaatccagg atgcccaaat tctgaggaca agaacttccc ccggactgtg 180

atggtcaacc tgaacatcca taaccggaat accaatacca atcccaaaag gtcctcagat 240

tactacaacc gatccacctc accttggaat ctccaccgca atgaggaccc tgagagatat 300

ccctctgtga tctgggaggc aaagtgccgc cacttgggct gcatcaacgc tgatgggaac 360

gtggactacc acatgaactc tgtccccatc cagcaagaga tcctggtcct gcgcagggag 420

cctccacact gccccaactc cttccggctg gagaagatac tggtgtccgt gggctgcacc 480

tgtgtcaccc cgattgtcca ccatgtggcc taagagctct ggggagccca cactccccaa 540

agcagttaga ctatggagag ccgacccagc ccctcaggaa ccctcatcct tcaaagacag 600

cctcatttcg gactaaactc attagagttc ttaaggcagt ttgtccaatt aaagcttcag 660

aggtaacact tggccaagat atgagatctg aattaccttt ccctctttcc aagaaggaag 720

gtttgactga gtaccaattt gcttcttgtt tacttttta agggctttaa gttatttatg 780

tatttaatat gccctgagat aactttgggg tataagattc cattttaatg aattacctac 840

tttattttgt ttgtcttttt aaagaagata gattctggg cttgggaatt ttattattta 900

aaaggtaaaa cctgtattta tttgagctat ttaaggatct atttatgttt aagtatttag 960

aaaaaggtga aaaagcacta ttatcagttc tgcctaggta aatgtaagat agaattaaat 1020

ggcagtgcaa aatttctgag tctttacaac atacggatat agtatttcct cctctttgtt 1080

tttaaaagtt ataacatggc tgaaaagaaa gattaaacct actttcatat gtattaattt 1140

aaattttgca atttgttgag gttttacaag agatacagca agtctaactc tctgttccat 1200

taaaccctta taataaaatc cttctgtaat aataaagttt caaaagaaaa tgtttatttg 1260

ttctcattaa atgtatttta gcaaactcag ctcttcccta ttgggaagag ttatgcaaat 1320

tctcctataa gcaaaacaaa gcatgtcttt gagtaacaat gacctggaaa tacccaaaat 1380

tccaagttct cgatttcaca tgccttcaag actgaacacc gactaaggtt ttcatactat 1440

tagccaatgc tgtagacaga agcattttga taggaataga gcaaataaga taatggccct 1500

gaggaatggc atgtcattat taaagatcat atggggaaaa tgaaaccctc cccaaaatac 1560

aagaagttct gggaggagac attgtcttca gactacaatg tccagtttct cccctagact 1620

caggcttcct ttggagatta aggcccctca gagatcaaca gaccaacatt tttctcttcc 1680

tcaagcaaca ctcctagggc ctggcttctg tctgatcaag gcaccacaca acccagaaag 1740

gagctgatgg ggcagaacga actttaagta tgagaaaagt tcagcccaag taaaataaaa 1800

actcaatcac attcaattcc agagtagttt caagtttcac atcgtaacca ttttcgccc 1859

<210> 2
<211> 155
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 2

```
Met Thr Pro Gly Lys Thr Ser Leu Val Ser Leu Leu Leu Leu Leu Ser
1               5                   10                  15

Leu Glu Ala Ile Val Lys Ala Gly Ile Thr Ile Pro Arg Asn Pro Gly
            20                  25                  30

Cys Pro Asn Ser Glu Asp Lys Asn Phe Pro Arg Thr Val Met Val Asn
        35                  40                  45

Leu Asn Ile His Asn Arg Asn Thr Asn Thr Asn Pro Lys Arg Ser Ser
    50                  55                  60

Asp Tyr Tyr Asn Arg Ser Thr Ser Pro Trp Asn Leu His Arg Asn Glu
65                  70                  75                  80

Asp Pro Glu Arg Tyr Pro Ser Val Ile Trp Glu Ala Lys Cys Arg His
                85                  90                  95

Leu Gly Cys Ile Asn Ala Asp Gly Asn Val Asp Tyr His Met Asn Ser
            100                 105                 110

Val Pro Ile Gln Gln Glu Ile Leu Val Leu Arg Arg Glu Pro Pro His
        115                 120                 125

Cys Pro Asn Ser Phe Arg Leu Glu Lys Ile Leu Val Ser Val Gly Cys
    130                 135                 140

Thr Cys Val Thr Pro Ile Val His His Val Ala
145                 150                 155
```

<210> 3
<211> 535
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 3
agccaccagc gcaacatgac agtgaagacc ctgcatggcc cagccatggt caagtacttg 60

ctgctgtcga tattggggct tgcctttctg agtgaggcgg cagctcggaa aatccccaaa 120

gtaggacata ctttttttcca aaagcctgag agttgcccgc ctgtgccagg aggtagtatg 180

aagcttgaca ttggcatcat caatgaaaac cagcgcgttt ccatgtcacg taacatcgag 240

agccgctcca cctccccctg gaattacact gtcacttggg accccaaccg gtacccctcg 300

gaagttgtac aggcccagtg taggaacttg ggctgcatca atgctcaagg aaaggaagac 360

atctccatga attccgttcc catccagcaa gagaccctgg tcgtccggag gaagcaccaa 420

ggctgctctg tttctttcca gttggagaag gtgctggtga ctgttggctg cacctgcgtc 480

acccctgtca tccaccatgt gcagtaagag gtgcatatcc actcagctga agaag 535

<210> 4
<211> 163
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 4
Met Thr Val Lys Thr Leu His Gly Pro Ala Met Val Lys Tyr Leu Leu
1 5 10 15

Leu Ser Ile Leu Gly Leu Ala Phe Leu Ser Glu Ala Ala Ala Arg Lys
20 25 30

Ile Pro Lys Val Gly His Thr Phe Phe Gln Lys Pro Glu Ser Cys Pro
35 40 45

Pro Val Pro Gly Gly Ser Met Lys Leu Asp Ile Gly Ile Ile Asn Glu
50 55 60

Asn Gln Arg Val Ser Met Ser Arg Asn Ile Glu Ser Arg Ser Thr Ser
65 70 75 80

Pro Trp Asn Tyr Thr Val Thr Trp Asp Pro Asn Arg Tyr Pro Ser Glu
85 90 95

Val Val Gln Ala Gln Cys Arg Asn Leu Gly Cys Ile Asn Ala Gln Gly
100 105 110

Lys Glu Asp Ile Ser Met Asn Ser Val Pro Ile Gln Gln Glu Thr Leu
115 120 125

Val Val Arg Arg Lys His Gln Gly Cys Ser Val Ser Phe Gln Leu Glu
130 135 140

Lys Val Leu Val Thr Val Gly Cys Thr Cys Val Thr Pro Val Ile His
145 150 155 160

His Val Gln

<210> 5
<211> 2380
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 5
acactggcca aacaaaaacg aaagcactcc gtgctggaag taggaggaga gtcaggactc 60

ccaggacaga gagtgcacaa actacccagc acagcccccc ccgccccctc tggaggctga 120

agagggattc cagcccctgc cacccacaga cacgggctga ctggggtgtc tgccccccct 180

gggggggggc agcacagggc ctcaggcctg ggtgccacct ggcacctaga agatgcctgt 240

gccctggttc ttgctgtcct tggcactggg ccgaagccca gtggtccttt ctctggagag 300

gcttgtgggg cctcaggacg ctacccactg ctctccgggc ctctcctgcc gcctctggga 360

cagtgacata ctctgcctgc ctggggacat cgtgcctgct ccgggccccg tgctggcgcc 420

tacgcacctg cagacagagc tggtgctgag gtgccagaag gagaccgact gtgacctctg 480

tctgcgtgtg gctgtccact tggccgtgca tgggcactgg gaagagcctg aagatgagga 540

aaagtttgga ggagcagctg actcaggggt ggaggagcct aggaatgcct ctctccaggc 600

ccaagtcgtg ctctccttcc aggcctaccc tactgcccgc tgcgtcctgc tggaggtgca 660

agtgcctgct gcccttgtgc agtttggtca gtctgtgggc tctgtggtat atgactgctt 720

cgaggctgcc ctagggagtg aggtacgaat ctggtcctat actcagccca ggtacgagaa 780

ggaactcaac cacacacagc agctgcctgc cctgccctgg ctcaacgtgt cagcagatgg 840

tgacaacgtg catctggttc tgaatgtctc tgaggagcag cacttcggcc tctccctgta 900

ctggaatcag gtccagggcc ccccaaaacc ccggtggcac aaaaacctga ctggaccgca 960

gatcattacc ttgaaccaca cagacctggt tccctgcctc tgtattcagg tgtggcctct 1020

ggaacctgac tccgttagga cgaacatctg ccccttcagg gaggaccccc gcgcacacca 1080

gaacctctgg caagccgccc gactgcgact gctgaccctg cagagctggc tgctggacgc 1140

accgtgctcg ctgcccgcag aagcggcact gtgctggcgg gctccgggtg gggacccctg 1200

ccagccactg gtcccaccgc tttcctggga gaacgtcact gtggacaagg ttctcgagtt 1260

cccattgctg aaaggccacc ctaacctctg tgttcaggtg aacagctcgg agaagctgca 1320

gctgcaggag tgcttgtggg ctgactccct ggggcctctc aaagacgatg tgctactgtt 1380

ggagacacga ggcccccagg acaacagatc cctctgtgcc ttggaaccca gtggctgtac 1440

ttcactaccc agcaaagcct ccacgagggc agctcgcctt ggagagtact tactacaaga 1500

cctgcagtca ggccagtgtc tgcagctatg ggacgatgac ttgggagcgc tatgggcctg 1560

ccccatggac aaatacatcc acaagcgctg ggccctcgtg tggctggcct gcctactctt 1620

tgccgctgcg ctttccctca tcctccttct caaaaaggat cacgcgaaag ggtggctgag 1680

gctcttgaaa caggacgtcc gctcgggggc ggccgccagg ggccgcgcgg ctctgctcct 1740

ctactcagcc gatgactcgg gtttcgagcg cctggtgggc gccctggcgt cggccctgtg 1800

ccagctgccg ctgcgcgtgg ccgtagacct gtggagccgt cgtgaactga gcgcgcaggg 1860

gcccgtggct tggtttcacg cgcagcggcg ccagaccctg caggagggcg gcgtggtggt 1920

cttgctcttc tctcccggtg cggtggcgct gtgcagcgag tggctacagg atggggtgtc 1980

cgggcccggg gcgcacggcc cgcacgacgc cttccgcgcc tcgctcagct gcgtgctgcc 2040

cgacttcttg cagggccggg cgcccggcag ctacgtgggg gcctgcttcg acaggctgct 2100

ccacccggac gccgtacccg ccctttccg caccgtgccc gtcttcacac tgccctccca 2160

actgccagac ttcctggggg ccctgcagca gcctcgcgcc ccgcgttccg ggcggctcca 2220

agagagagcg gagcaagtgt cccgggccct tcagccagcc ctggatagct acttccatcc 2280

cccggggact cccgcgccgg gacgcggggt gggaccaggg gcgggacctg gggcggggga 2340

cgggacttaa ataaaggcag acgctgtttt tctaaaaaaa 2380

<210> 6
<211> 705
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 6
Met Pro Val Pro Trp Phe Leu Leu Ser Leu Ala Leu Gly Arg Ser Pro
1 5 10 15

Val Val Leu Ser Leu Glu Arg Leu Val Gly Pro Gln Asp Ala Thr His
20 25 30

Cys Ser Pro Gly Leu Ser Cys Arg Leu Trp Asp Ser Asp Ile Leu Cys
35 40 45

Leu Pro Gly Asp Ile Val Pro Ala Pro Gly Pro Val Leu Ala Pro Thr
50 55 60

His Leu Gln Thr Glu Leu Val Leu Arg Cys Gln Lys Glu Thr Asp Cys
65 70 75 80

Asp Leu Cys Leu Arg Val Ala Val His Leu Ala Val His Gly His Trp
85 90 95

Glu Glu Pro Glu Asp Glu Glu Lys Phe Gly Gly Ala Ala Asp Ser Gly
100 105 110

Val Glu Glu Pro Arg Asn Ala Ser Leu Gln Ala Gln Val Val Leu Ser

```
        115                 120                 125

Phe Gln Ala Tyr Pro Thr Ala Arg Cys Val Leu Leu Glu Val Gln Val
    130                 135                 140

Pro Ala Ala Leu Val Gln Phe Gly Gln Ser Val Gly Ser Val Val Tyr
145                 150                 155                 160

Asp Cys Phe Glu Ala Ala Leu Gly Ser Glu Val Arg Ile Trp Ser Tyr
                165                 170                 175

Thr Gln Pro Arg Tyr Glu Lys Glu Leu Asn His Thr Gln Gln Leu Pro
            180                 185                 190

Ala Leu Pro Trp Leu Asn Val Ser Ala Asp Gly Asp Asn Val His Leu
        195                 200                 205

Val Leu Asn Val Ser Glu Glu Gln His Phe Gly Leu Ser Leu Tyr Trp
    210                 215                 220

Asn Gln Val Gln Gly Pro Pro Lys Pro Arg Trp His Lys Asn Leu Thr
225                 230                 235                 240

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

Cys Ile Gln Val Trp Pro Leu Glu Pro Asp Ser Val Arg Thr Asn Ile
            260                 265                 270

Cys Pro Phe Arg Glu Asp Pro Arg Ala His Gln Asn Leu Trp Gln Ala
        275                 280                 285

Ala Arg Leu Arg Leu Leu Thr Leu Gln Ser Trp Leu Leu Asp Ala Pro
    290                 295                 300

Cys Ser Leu Pro Ala Glu Ala Ala Leu Cys Trp Arg Ala Pro Gly Gly
305                 310                 315                 320

Asp Pro Cys Gln Pro Leu Val Pro Pro Leu Ser Trp Glu Asn Val Thr
                325                 330                 335

Val Asp Lys Val Leu Glu Phe Pro Leu Leu Lys Gly His Pro Asn Leu
            340                 345                 350

Cys Val Gln Val Asn Ser Ser Glu Lys Leu Gln Leu Gln Glu Cys Leu
        355                 360                 365

Trp Ala Asp Ser Leu Gly Pro Leu Lys Asp Asp Val Leu Leu Leu Glu
    370                 375                 380
```

```
Thr Arg Gly Pro Gln Asp Asn Arg Ser Leu Cys Ala Leu Glu Pro Ser
385                 390                 395                 400

Gly Cys Thr Ser Leu Pro Ser Lys Ala Ser Thr Arg Ala Ala Arg Leu
                405                 410                 415

Gly Glu Tyr Leu Leu Gln Asp Leu Gln Ser Gly Gln Cys Leu Gln Leu
            420                 425                 430

Trp Asp Asp Asp Leu Gly Ala Leu Trp Ala Cys Pro Met Asp Lys Tyr
        435                 440                 445

Ile His Lys Arg Trp Ala Leu Val Trp Leu Ala Cys Leu Leu Phe Ala
    450                 455                 460

Ala Ala Leu Ser Leu Ile Leu Leu Leu Lys Lys Asp His Ala Lys Gly
465                 470                 475                 480

Trp Leu Arg Leu Leu Lys Gln Asp Val Arg Ser Gly Ala Ala Ala Arg
                485                 490                 495

Gly Arg Ala Ala Leu Leu Leu Tyr Ser Ala Asp Asp Ser Gly Phe Glu
            500                 505                 510

Arg Leu Val Gly Ala Leu Ala Ser Ala Leu Cys Gln Leu Pro Leu Arg
        515                 520                 525

Val Ala Val Asp Leu Trp Ser Arg Arg Glu Leu Ser Ala Gln Gly Pro
    530                 535                 540

Val Ala Trp Phe His Ala Gln Arg Arg Gln Thr Leu Gln Glu Gly Gly
545                 550                 555                 560

Val Val Val Leu Leu Phe Ser Pro Gly Ala Val Ala Leu Cys Ser Glu
                565                 570                 575

Trp Leu Gln Asp Gly Val Ser Gly Pro Gly Ala His Gly Pro His Asp
            580                 585                 590

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

Arg Ala Pro Gly Ser Tyr Val Gly Ala Cys Phe Asp Arg Leu Leu His
    610                 615                 620

Pro Asp Ala Val Pro Ala Leu Phe Arg Thr Val Pro Val Phe Thr Leu
625                 630                 635                 640

Pro Ser Gln Leu Pro Asp Phe Leu Gly Ala Leu Gln Gln Pro Arg Ala
```

645 650 655

Pro Arg Ser Gly Arg Leu Gln Glu Arg Ala Glu Gln Val Ser Arg Ala
660 665 670

Leu Gln Pro Ala Leu Asp Ser Tyr Phe His Pro Pro Gly Thr Pro Ala
675 680 685

Pro Gly Arg Gly Val Gly Pro Gly Ala Gly Pro Gly Ala Gly Asp Gly
690 695 700

Thr
705

TRATAMIENTO DE TRASTORNOS RESISTENTES A INSULINA

RESUMEN-OBJETO Y FINALIDAD DE LA INVENCIÓN

La invención se refiere al tratamiento de tratamientos resistentes a insulina. En particular, la invención se refiere al tratamiento de trastornos resistentes a insulina por administración de IL-17, tales como antagonistas de IL-17A y/o IL-17F, tales como anticuerpos anti-IL-17A y/o IL-17F y/o IL-17Rc, o fragmentos de anticuerpos.

SECTOR: Anticuerpos monoclonales o policlonales que actúan contra citoquinas, linfoquinas o interferones.

TRATAMIENTO DE TRASTORNOS RESISTENTES A INSULINA

CAMPO DE LA INVENCIÓN

La invención se ocupa del tratamiento de trastornos resistentes a insulina. En particular, la invención se ocupa del tratamiento de trastornos resistentes a insulina por la administración de IL-17, tales como antagonistas de IL-17A y/o IL-17F, tales como anticuerpos anti-IL-17A y/o IL-17F y/o IL-17Rc, o fragmentos de anticuerpo.

ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

La familia IL-17

La interleuquina-17A (IL-17A) es una molécula proinflamatoria derivada de células T que estimula las células epitelial, endotelial y fibroblásticas para producir otras citoquinas inflamatorias y quimiocinas que incluyen IL-6, IL-8, G-CSF, y MCP-1 (ver, Yao, Z. et al., J. Immunol., 122(12):5483-5486 (1995); Yao, Z. et al, Immunity, 3(6):811-821 (1995); Fossiez, F., et al., J. Exp. Med., 183(6): 2593-2603 (1996); Kennedy, J., et al., J. Interferon Cytokine Res., 16(8):611-7 (1996); Cai, X. Y., et al., Immunol. Lett, 62(1):51-8 (1998); Jovanovic, D.V., et al., J. Immunol., 160(7):3513-21 (1998); Laan, M., et al., J. Immunol., 162(4):2347-52 (1999); Linden, A., et al., Eur Respir J, 15(5):973-7 (2000); y Aggarwal, S. y Gurney, A. L., J Leukoc Biol. 71(1):1-8 (2002)). IL-17 también actúa sinérgicamente con otras citoquinas incluso TNF-α y IL-1β para inducir aún más la expresión de la quimiocina (Chabaud, M., et al., J. Immunol. 161(1):409-14 (1998)). IL-17A exhibe

actividades biológicas pleiotrópicas sobre diversos tipos de células. IL-17A también tiene la capacidad para inducir la expresión de superficie de ICAM-1, la proliferación de células T, y el crecimiento y la diferenciación de progenitores $CD34^+$ humanos a neutrófilos. IL-17A también ha sido relacionada con el metabolismo óseo, y se ha sugerido que juega un papel importante en las condiciones patológicas caracterizadas por la presencia de células T activadas y la producción de TNF-α tales como artritis reumatoide y aflojamiento de implantes óseos (Van Bezooijen et al., J. Bone Miner. Res., 14: 1513-1521 (1999]). Se halló que las células T activadas del tejido sinovial derivadas de pacientes con artritis reumatoide secretan mayores cantidades de IL-17A que las derivadas de individuos normales o pacientes con osteoartritis (Chabaud et al., Arthritis Rheum., 42: 963-970 (1999)). Se sugirió que esta citoquina proinflamatoria contribuye activamente a la inflamación sinovial en artritis reumatoide. Además de su papel proinflamatorio, IL-17A parece contribuir a la patología de artritis reumatoide por algún otro mecanismo. Por ejemplo, se ha demostrado que IL-17A induce la expresión del mARN del factor de diferenciación de osteoclastos (ODF) en osteoblastos (Kotake et al., J. Clin. Invest., 103: 1345-1352 (1999)). ODF estimula la diferenciación de células progenitoras en osteoclastos, las células que intervienen en la resorción ósea. Dado que el nivel de IL-17A está significativamente incrementado en el líquido sinovial fluid de pacientes con artritis reumatoide, en apariencia la formación de osteoclastos inducida por IL-17A juega un papel esencial en la resorción ósea en artritis reumatoide.

También se cree que IL-17A juega un papel clave en ciertos otros trastornos autoinmunes tales como esclerosis múltiple (Matusevicius et al., Mult. Scler., 5: 101-104 (1999); Kurasawa, K., et al., Arthritis Rheu 43(11):2455-63 (2000)) y psoriasis (Teunissen, M. B., et al., J Invest Dermatol 111(4):645-9 (1998); Albanesi, C., et al., J Invest Dermatol 115(1):81-7 (2000); y Homey, B., et al., J. Immunol. 164(12:6621-32 (2000)).

También se ha demostrado que IL-17A, a través de señales intracelulares, estimula el influjo de Ca^{2+} y una reducción de $[cAMP]_i$ en macrófagos humanos (Jovanovic et al, J. Immunol., 160:3513 (1998)). Los fibroblastos tratados con IL-17A inducen la activación de NFκB, (Yao et al., Immunity, 3:811 (1995), Jovanovic et al., supra), mientras que los macrófagos tratados con ella activan NF-κB y las proteína quinasas activadas por mitógeno (Shalom-Barek et al, J. Biol. Chem., 273:27467 (1998)). Además, IL-17A también comparte similitud de secuencia con factor símil citosina 7 de mamífero que interviene en el crecimiento de hueso y cartílago. Otras proteínas con las cuales los polipéptidos de IL-17A comparten similitud de secuencia son el factor relacionado con interleuquina derivado de embrión humano (EDIRF) e interleuquina-20.

En concordancia con el amplio rango de efectos de IL-17A, se halló que el receptor de superficie celular de IL-17A está ampliamente expresado en muchos tejidos y tipos celulares (Yao et al., Cytokine, 2:794 (1997)). Si bien la secuencia de aminoácidos del receptor de IL-17A humano (IL-R) (866 aminoácidos) predice una proteína con un único dominio transmembrana y un largo dominio intracelular de 525

aminoácidos, la secuencia del receptor es singular y no es similar a la de ninguno de los receptores de la familia de receptores de citoquinas/factores de crecimiento. Esto, acoplado con la falta de similitud de la propia IL-17A a otras proteínas conocidas indica que IL-17A y su receptor podrían ser parte de una nueva familia de proteínas y receptores de señales. Se ha demostrado que la actividad de IL-17A es mediada a través de la unión a su exclusivo receptor de superficie celular (designado en la presente como IL-17R human), en donde estudios previos han demostrado que el contacto de las células T con una forma soluble del polipéptido de receptor IL-17A inhibe la proliferación de las células T y la producción de IL-2 inducida por PHA, concanavalina A y anticuerpo monoclonal anti-TCR (Yao et al., J. Immunol., 155:5483-5486 (1995)). Como tal, hay significativo interés por identificar y caracterizar nuevos polipéptidos que tienen homología con los receptores de citoquina conocidos, específicamente los receptores de IL-17A.

En la actualidad se reconoce que la interleuquina 17A es el elemento prototipo de una familia emergente de citoquinas. La determinación a gran escala de la secuencia del genoma humano y otros vertebrados ha revelado la presencia de genes adicionales que codifican proteínas claramente relacionadas con IL-17A, por lo que se define una nueva familia de citoquinas. Hay al menos 6 miembros de la familia IL-17 en humanos y ratones incluso IL-17A, IL-17B, IL-17C, IL-17D, IL-17E y IL-17F así como nuevos receptores IL-17RH1, IL-17RH2, IL-17RH3 y IL-17RH4 (ver el documento WO01/46420 publicado el 28 de junio de 2001). Se ha

demostrado que uno de dichos miembros de IL-17 (designado IL-17F) se fija al receptor de IL-17 humano (IL-17R) (Yao et al., Cytokine, 9(11):794-800 (1997)). La caracterización inicial sugiere que, al igual que IL-17A, varias de estas moléculas recientemente identificadas tienen capacidad para modular la función inmunológica. Las potentes acciones inflamatorias que se han identificado para varios de estos factores y las asociaciones emergentes con importantes enfermedades humanas sugieren que estas proteínas pueden tener significativos papeles en los procesos inflamatorios y pueden ofrecer oportunidades para la intervención terapéutica.

El gen que codifica IL-17F humano está ubicado adyacente a IL-17A (Hymowitz, S. G., et al., Embo J, 20(19):5332-41 (2001)). IL-17A y IL-17F comparten aproximadamente 44% de identidad de aminoácidos, mientras que los demás miembros de la familia IL-17 comparten un más limitado 15-27% de identidad de aminoácidos, lo cual sugiere que IL-17A y IL-17F forman un subgrupo diferenciado dentro de la familia IL-17 (Starnes, T., et al., J Immunol. 167(8):4137-40 (2001); Aggarwal, S. y Gurney, A. L., J. Leukoc Biol, 71(l):1-8 (2002)). IL-17F parece tener acciones biológicas similares a IL-17A, y es capaz de promover la producción de IL-6, IL-8, y G-CSF a partir de una amplia variedad de células. De modo similar a IL-17A, es capaz de inducir la liberación de matriz de cartílago y de inhibir la síntesis de nueva matriz de cartílago (ver el documento U. S. 2002-0177188-A1 publicado el 28 de noviembre de 2002). En consecuencia, al igual que IL-17A, IL-17F posiblemente contribuya a la patología de los trastornos inflamatorios.

Se ha informado que tanto IL-17A como IL-17F son inducidos en las células T por la acción de interleuquina 23 (IL-23) (Aggarwal, S., et al., J. Biol. Chem., 278(3):1910-4 (2003)). Más específicamente, tanto IL-17A como IL-17F han sido implicadas como agentes contribuyentes de la progresión y la patología de diversas enfermedades inflamatorias y autoinmunes en humanos y modelos murinos de enfermedades humanas. De hecho, IL-17A, y en menor grado IL-17F, han sido implicadas como citoquinas efectoras que desencadenan las respuestas inflamatorias y así contribuyen a numerosas enfermedades autoinflamatorias (autoinmunes), incluso esclerosis múltiple (MS), artritis reumatoide (RA), y enfermedades inflamatorias intestinales (IBD). Este linaje ha sido denominado Th_{17} y la cantidad de estas células se correlaciona claramente con la progresión de la enfermedad y la severidad en modelos murinos de enfermedades autoinmunes humanas. Si bien el compromiso de IL-17A y IL-17F en las enfermedades inflamatorias parece ser claro, las células objetivo para estas citoquinas no se han identificado, debido en parte al hecho de que no se ha detectado el receptor de IL-17F. Recientemente se informó que IL-17Rc es un receptor de IL-17A y IL-17F (Presnell, et al., J. Immunol. 179(8):5462-73 (2007)).

Inflamación y obesidad

Un importante desarrollo reciente de nuestro conocimiento de la obesidad es la emergencia del concepto de que la inflamación y la diabetes se caracterizan por un estado de inflamación crónica de grado bajo. La base de esta visión es que los niveles elevados circulantes de varios

marcadores de inflamación, tanto de citoquinas proinflamatorias como de proteínas de fase aguda, están elevados en los obesos; estos marcadores incluyen IL-6, el sistema TNFα, la proteína C reactiva (CRP) y haptoglobina. Sin embargo, las implicaciones en términos del propio sitio de la inflamación, ya sea sistémica o local, no están definidas.

La resistencia a insulina, definida como una respuesta biológica inferior a la esperada ante una dosis determinada de insulina, es un correlato ubicuo de la obesidad. De hecho, se cree que muchas de las consecuencias patológicas de la obesidad incluyen la resistencia a insulina. Estas incluyen hipertensión, hiperlipidemia y, más notablemente, diabetes mellitus no insulinodependiente (NIDDM). La mayoría de los pacientes de NIDDM son obesos, y un componente muy central y temprano del desarrollo de NIDDM es la resistencia a insulina (Moller et al., New Eng. J. Med., 325: 938 (1991)). Se ha demostrado que se desarrolla una anomalía posreceptor durante el curso de la resistencia a insulina, además de la regulación hacia abajo del receptor de insulina durante las fases iniciales de esta enfermedad (Olefsky et al., en Diabetes Mellitus, Rifkin y Porte, Jr., Eds. (Elsevier Science Publishing Co., Inc., Nueva York, ed. 4, 1990), pp. 121-153).

SÍNTESIS DE LA INVENCIÓN

La presente invención se basa, al menos en parte, en el descubrimiento de que los miembros de la familia IL-17, y en particular IL-17A y IL-17F, juegan un papel importante en la obesidad, la resistencia a insulina y otros trastornos

asociados con la obesidad, tales como hiperlipidemia y el síndrome metabólico, y que los antagonistas de IL-17, especialmente los antagonistas de IL-17A y IL-17F, se pueden usar para tratar estas condiciones patológicas.

En un aspecto, la invención se ocupa de un método para tratar un trastorno de resistencia a insulina en un mamífero que comprende administrar a un mamífero que lo necesite una cantidad efectiva de un antagonista de IL-17A y/o IL-17F.

En otro aspecto, la invención se ocupa de una composición farmacéutica que comprende un antagonista de IL-17A y/o IL-17F en mezcla con un excipiente farmacéuticamente aceptable, para el tratamiento de un trastorno resistente a insulina.

En otro aspecto, la invención se ocupa del uso de un antagonista de IL-17A y/o IL-17F en el tratamiento de un trastorno de resistencia a insulina.

En aún otro aspecto, la invención se ocupa de un kit para tratar un trastorno de resistencia a insulina, en donde dicho kit comprende: (a) un contenedor que comprende un antagonista de IL-17A y/o IL-17F; y (b) un rótulo o instrucciones para administrar dicho anticuerpo para tratar dicho trastorno.

En todos los aspectos, en una forma de realización, el trastorno es seleccionado del grupo que consiste de diabetes mellitus no insulinodependiente (NIDDM), obesidad, hiperandrogenismo ovárico, e hipertensión. En otra forma de realización, el trastorno es NIDDM u obesidad.

En aún otra forma de realización, el mamífero es humano y la administración es sistémica.

En aún otra forma de realización, el antagonista IL-17A

y/o IL-17F es un anticuerpo o uno de sus fragmentos, tales como un anticuerpo seleccionado del grupo que consiste de anticuerpos anti-IL-17A, anti-IL-17F, anti-IL-17A/F, y anti-IL-17Rc, o uno de sus fragmentos.

Con preferencia, el anticuerpo es un anticuerpo monoclonal, incluso anticuerpos quiméricos, humanizados o humanos, anticuerpos biespecíficos, multiespecíficos o con reacciones cruzadas.

En aún otra forma de realización, el método incluye la administración de una cantidad efectiva de un agente para tratar la resistencia a insulina, tal como insulina, IGF-1, o una sulfonilurea.

En otra forma de realización, el método incluye la administración de una cantidad efectiva de otro agente capaz de tratar dicho trastorno de resistencia a insulina, tales como Dickkopf-5 (Dkk-5).

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

La FIG. 1 muestra una secuencia de nucleótidos (SEQ ID NO:1) de una secuencia nativa de cADN de IL-17A humana.

La FIG. 2 muestra la secuencia de aminoácidos (SEQ ID NO:2) de una secuencia nativa de IL-17A humana derivada de la secuencia codificadora de SEQ ID NO:1 mostrada en la FIG. 1.

La FIG. 3 muestra una secuencia de nucleótidos (SEQ ID NO:3) de una secuencia nativa de cADN de IL-17F humana.

La FIG. 4 muestra la secuencia de aminoácidos (SEQ ID NO:4) de una secuencia nativa de IL-17F humana derivada de la secuencia codificadora de SEQ ID NO:3 mostrada en la FIG.3.

La FIG. 5 muestra una secuencia de nucleótidos (SEQ ID NO: 5) que codifica la secuencia nativa del polipéptido receptor de IL-17 humana C (IL-17Rc), es cual también se conoce como un clon designado "ADN164625-2890".

La FIG. 6 muestra la secuencia de aminoácidos (SEQ ID NO: 6) del la secuencia nativa del polipéptido IL-17Rc humano (también denominado receptor IL-17RH2).

FIG. 7 Diseño experimental de un estudio de modelo de dieta rica en grasas (HFD) que utiliza ratones IL-17Rc KO.

FIG. 8 Resultados a la semana 8 de un estudio de modelo de dieta rica en grasa (HFD) usando ratones IL-17Rc KO.

FIG. 9A y 9B Niveles de glucosa en ratones de tipo silvestre y IL-17Rc KO en el grupo control y el grupo de dieta rica en grasas. Los ratones IL-17Rc KO son resistentes a la resistencia a insulina inducida por la dieta rica en grasas (HFD).

FIG. 10 Área bajo la curva a la semana 10.

FIG. 11 Resultados de peso corporal.

FIG. 12 Efecto de mAb anti-IL-17 y anti-IL-17F sobre el modelo de dieta HF resistente a insulina.

FIG. 13 Prueba de tolerancia a glucosa (GTT) en el período de dosis posterior a la semana 9.

FIG. 14 Expresión ectópica de IL-17 A debida a la inyección de ADN de plásmido seguida de la prueba de tolerancia a glucosa (GTT). Efecto de la sobreexpresión de IL-17 sobre el estado de resistencia a insulina evaluado mediante GTT.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCIÓN

A. Definiciones

El término "IL-17" se usa para referirse en general a miembros de la familia IL-17, incluso IL-17A, IL-17, IL-17B, IL-17C, IL-17D, IL-17E, IL-17F, y IL-17A/F. Los IL-17 preferidos en la presente son IL-17A, IL-17F, y IL-17A/F.

Un "polipéptido de secuencia nativa de IL-17" comprende un polipéptido que tiene la misma secuencia de aminoácidos que el correspondiente polipéptido IL-17 derivado de la naturaleza. Dicho polipéptido de secuencia nativa de IL-17 se puede aislar de la naturaleza o puede ser producido por medios recombinantes o de síntesis. El término "polipéptido de secuencia nativa de IL-17" abarca específicamente las formas truncadas o secretadas que se encuentran en la naturaleza del polipéptido IL-17 específico (por ejemplo, una secuencia de dominio extracelular), formas variantes que se encuentran en la naturaleza (por ejemplo, formas empalmadas alternativamente) y variantes alélicas del polipéptido que se encuentran en la naturaleza. En diversas formas de realización de la invención, los polipéptidos de secuencia nativa de IL-17 descritos en la presente son polipéptidos maduros o de longitud total de secuencia nativa humana IL-17A, IL-17F, y IL-17A/F que comprenden la longitud total de las secuencias de aminoácidos mostrada en las Figuras 2 y 4 (SEQ ID NOs: 2 y 4). Los codones de inicio y de detención se muestran en fuente negrita, y subrayados en las figuras.

El término "polipéptido de secuencia nativa IL-17Rc" o "secuencia nativa IL-17Rc" se refiere a un polipéptido que tiene la misma secuencia de aminoácidos que el

correspondiente polipéptido IL-17Rc derivado de la naturaleza. Dichos polipéptidos de secuencias nativas IL-17Rc pueden ser aislados de la naturaleza o pueden ser producidos por medios recombinantes o de síntesis. El término "polipéptido de secuencia nativa IL-17Rc" abarca específicamente las formas truncadas o secretadas del polipéptido específico IL-17Rc que se encuentran en la naturaleza, las formas variantes que se encuentran en la naturaleza (por ejemplo, formas empalmadas alternativamente) y las variantes alélicas del polipéptido que se encuentran en la naturaleza. En diversas formas de realización de la invención, el polipéptido de secuencia nativa IL-17Rc descrito en la presente es de longitud total de la secuencia nativa humana IL-17Rc que comprende la longitud total de aminoácidos mostrada en las Figuras 6 (SEQ ID NO: 6).

"Aislado", cuando se usa para describir los diversos polipéptidos descritos en la presente, significa un polipéptido que ha sido identificado y separado y/o recuperado de un componente de su ambiente natural. Los componentes contaminantes de su ambiente natural son materiales que generalmente interferirían con los usos de diagnóstico o terapéuticos para el polipéptido, y pueden incluir enzimas, hormonas y otros solutos proteináceos o no proteináceos. En formas preferidas de realización, el polipéptido será purificado (1) hasta un grado suficiente para obtener al menos 15 residuos de secuencia de aminoácidos N-terminal o interna mediante el uso de un secuenciador de copa giratoria, o (2) hasta homogeneidad por SDS-PAGE en condiciones no reductoras o reductoras mediante el uso de tinción de azul Coomassie o, con preferencia, de

plata. El polipéptido aislado incluye polipéptido en situ dentro de células recombinantes, dado que al menos un componente del ambiente natural del polipéptido IL-17 no estará presente. En condiciones ordinarias, sin embargo, se preparará el polipéptido aislado mediante al menos una etapa de purificación.

Tal como se usa en la presente, "obesidad" se refiere a una condición por la cual un mamífero tiene un Índice de masa corporal (IMC), el cual se calcula por el peso (kg) por la altura^2 (metros), de al menos 25,9. Convencionalmente, las personas con peso normal tienen un IMC de 19,9 a menos de 25,9. La obesidad asociada con resistencia a insulina se incluye específicamente dentro de esta definición.

"Resistencia a insulina" o un "trastorno de resistencia a insulina" o una "actividad resistente a insulina" es una enfermedad, condición patológica o trastorno que resulta de una falla de la respuesta metabólica normal de los tejidos periféricos (insensibilidad) a la acción de insulina exógena, es decir, es una condición en la cual la presencia de insulina produce una respuesta biológica subnormal. En términos clínicos, hay resistencia a insulina cuando los niveles de glucosa en sangre normales o elevados persisten frente a niveles normales o elevados de insulina. Representa, en esencia, una inhibición de la síntesis de glucógeno, por lo cual la síntesis de glucógeno basal o estimulada por la insulina, o ambas, se reducen por debajo de los niveles normales. La resistencia a insulina juega u papel importante en la diabetes tipo 2, tal como se demuestra por el hecho de que la hiperglucemia presente en la diabetes tipo 2 en ocasiones se puede revertir con la

dieta o la pérdida de peso suficiente, en apariencia, pare restablecer la sensibilidad de los tejidos periféricos a la insulina. El término incluye la tolerancia anormal a la glucosa, así como los muchos trastornos en los cuales la resistencia a insulina juega un papel clave, tales como obesidad, diabetes mellitus, hiperandrogenismo ovárico e hipertensión.

"Diabetes mellitus" se refiere a un estado de hiperglucemia crónica, es decir, exceso de azúcar en la sangre, como consecuencia de una falta relativa o absoluta de acción de la insulina. Hay tres tipos básicos de diabetes mellitus, tipo I o diabetes mellitus dependiente de insulina (IDDM), tipo II o diabetes mellitus no insulinodependiente (NIDDM), y tipo A de resistencia a insulina, si bien el tipo A es relativamente infrecuente. Los pacientes con diabetes de tipo I o de tipo II pueden hacerse insensibles a los efectos de la insulina exógena a través de diversos mecanismos. La resistencia a insulina de tipo A es el resultado de mutaciones en el gen receptor de insulina o de defectos en los sitios posteriores al receptor de acción crítica para el metabolismo de la glucosa. Los sujetos diabéticos pueden ser fácilmente reconocidos por el médico, y se caracterizan por la hiperglucemia, el deterioro de la tolerancia a la glucosa, la hemoglobina glucosilada y, en algunas instancias, cetoacidosis asociada con traumatismo o enfermedad.

"Diabetes mellitus no insulinodependiente" o "NIDDM" se refiere a diabetes tipo II. Los pacientes con NIDDM tienen una concentración anormalmente elevada de glucosa sanguínea en ayunas y retraso de la captación celular de glucosa

después de las comidas o después de una prueba de diagnóstico denominada prueba de tolerancia a glucosa. La NIDDM se diagnostica sobre la base de criterios reconocidos (American Diabetes Association, Physician's Guide to Insulin-Dependent (Type I) Diabetes, 1988; American Diabetes Association, Physician's Guide to no Insulin-Dependent (Type II) Diabetes, 1988).

Los síntomas y las complicaciones de la diabetes que se desea tratar como trastorno definido en la presente incluyen hiperglucemia, control insatisfactorio de la glucemia, cetoacidosis, resistencia a insulina, niveles elevados de hormona de crecimiento, niveles elevados de hemoglobina glucosilada y productos finales de avanzada glucosilación (AGE), fenómeno del amanecer, perfil lipídico insatisfactorio, enfermedad vascular (por ejemplo, aterosclerosis), enfermedad microvascular, trastornos de la retina (por ejemplo, retinopatía diabética proliferativa), trastornos renales, neuropatía, complicaciones del embarazo (por ejemplo, terminación prematura y defectos de nacimiento) y similares. Se incluyen en la definición de tratamiento los puntos finales tales como, por ejemplo, incremento de sensibilidad a la insulina, reducción de la dosis de insulina con mantenimiento del control de la glucemia, disminución de HbA1c, mejoramiento del control de la glucemia, reducción de las complicaciones vasculares, renales, neurales, retinianos, y otros de la diabetes, prevención o reducción del "fenómeno del amanecer", mejoramiento del perfil lipídico, reducción de las complicaciones del embarazo, y reducción de la cetoacidosis.

Una "composición terapéutica" o "composición", tal como se usa en la presente, se define en que comprende Dkk-5 y un portador farmacéuticamente aceptable, tal como agua, minerales, proteínas, y otros excipientes conocidos por los expertos en la técnica.

El término "mamífero" a los fines del tratamiento se refiere a cualquier animal clasificado como mamífero, incluso sin limitaciones, humanos, roedores, animales deportivos, de zoológico, mascotas y domésticos o de granja tales como perros, gatos, vacas, ovejas, cerdos, caballos, y primates no humanos, tales como monos. Con preferencia los roedores son ratones o ratas. Con preferencia, el mamífero es un humano, también denominado en la presente paciente.

Tal como se usa en la presente, "tratar" describe el manejo y la atención de un mamífero con el fin de combatir cualquiera de las enfermedades o condiciones patológicas dirigidas de acuerdo con la presente invención, incluso, sin limitación, resistencia a insulina, diabetes mellitus, hiperinsulinemia, hipoinsulinemia, u obesidad e incluye la administración para prevenir el inicio de los síntomas o complicaciones, aliviar los síntomas o complicaciones, o eliminar las enfermedades o condiciones patológicas a las cuales está dirigida.

A los fines de la presente invención, el "tratamiento" clínico beneficioso o deseado da por resultado la reducción de resistencia a insulina que incluye, sin limitaciones, alivio de síntomas asociados con resistencia a insulina, disminución del grado de los síntomas de resistencia a insulina, estabilización (es decir, no agravamiento) de los síntomas de resistencia a insulina (por ejemplo, reducción

de requisito de insulina), incremento de la sensibilidad a insulina y/o la secreción de insulina para impedir la falla de las células de los islotes, y el retraso o freno de la progresión de la resistencia a insulina, por ejemplo, la progresión de la diabetes.

Respecto de la obesidad, el "tratamiento" generalmente se refiere a reducir el IMC del mamífero a menos de aproximadamente 25,9, y mantener el peso durante al menos 6 meses. El tratamiento de preferencia da por resultado una reducción de la ingesta de alimentos o calórica por parte del mamífero. Además, el tratamiento en este contexto se refiere a impedir que ocurra la obesidad si el tratamiento se administra antes del inicio de la condición obesa. El tratamiento incluye la inhibición y/o la completa supresión de la lipogénesis en mamíferos obesos, es decir, la excesiva acumulación de lípidos en las células grasas, la cual es una de las principales características de la obesidad human y animal, así como la pérdida del peso corporal total.

Aquellos "en necesidad de tratamiento" incluyen mamíferos que ya padecen el trastorno, así como los que tienen tendencia a tener el trastorno, incluso aquellos en los cuales se desea prevenir el trastorno.

Un "agente para tratar la resistencia a insulina" es un agente distinto del antagonista de IL-17 que se usa para tratar la resistencia a insulina, tales como, por ejemplo, Dickkopf-5 (Dkk-5) (ver, por ejemplo, la Publicación de la solicitud de los Estados Unidos N.° 2005/0170440), y agentes hipoglucemiantes. Los ejemplos de dichos agentes de tratamiento incluyen insulina (una o más insulinas diferentes); insulinomiméticos tales como una insulina de

molécula pequeña, por ejemplo, L-783,281; análogos de insulina (por ejemplo, insulina HUMALOG® (Eli Lilly Co.), insulina Lys_{B28}, insulina Pro_{B29}, o insulina Asp_{B21} o las descritas, por ejemplo, en las patentes de los Estados Unidos N.° 5. 149.777 y 5.514.646), o sus fragmentos fisiológicamente activos; péptidos relacionados con insulina (péptido C, GLP-1, factor de crecimiento símil insulina -I (IGE-1), o complejo IGF-1/IGFBP-3) o sus análogos o fragmentos; ergoset; pramlintida; leptina; BAY-27-9955; T-1095; antagonistas de inhibidor tirosina quinasa de receptor de insulina; antagonistas de la función de TNF-α; un agente liberador de hormona de crecimiento; amilina o anticuerpos contra amilina; un sensibilizador de insulina, tal como compuestos de la familia de glitazonas, incluso los descritos en la patente de los Estados Unidos N.° 5.753.681, tales como troglitazona, pioglitazona, englitazona, y compuestos relacionados; Linalol solo o con Vitamina E (patente de los Estados Unidos N.° 6.187.333); mejoradores de la secreción de insulina tales como nateglinida (AY-4166), (2S)-2-bencil-3-(cis-hexahidro-2-isoindolinilcarbonil)propionato de calcio dihidrato (mitiglinida, KAD-1229), y repaglinida; fármacos de sulfonilurea, por ejemplo, acetohexamida, clorpropamida, tolazamida, tolbutamida, glucopiramida y su sal de amonio, glibenclamida, glibomurida, gliclazida, 1-butil-3-metanililurea, carbutamida, glipizida, gliquidona, glisoxepida, glibutiazol, glibuzol, glihexamida, gliymidina, glipinamida, fenbutamida, tolciclamida, glimepirida, etc.; biguanidas (tales como denformina, metformina, buformina, etc.); inhibidores de α-glucosidasa (tales como acarbosa,

voglibosa, miglitol, emiglitato, etc.), y tratamientos no típicos tales como trasplante de páncreas o reactivos autoinmunes.

Un "agente de pérdida de peso" se refiere a una molécula de utilidad para el tratamiento o la prevención de la obesidad. Dichas moléculas incluyen, por ejemplo, hormonas (catecolaminas, glucagón, ACTH, y hormona de crecimiento combinada con IGF-1); la proteína Ob; clofibrato; halogenato; cincocaína; clorpromazina; fármacos supresores del apetito que actúan sobre neurotransmisores noradrenérgicos tales como mazindol y derivados de fenetilamina, por ejemplo, fenilpropanolamina, dietilpropiona, fentermina, fendimetrazina, benzfetamina, anfetamina, metanfetamina y fenmetrazina; fármacos que actúan sobre neurotransmisores de serotonina tales como fenfluramina, triptófano, 5-hidroxitriptófano, fluoxetina, y sertralina; fármacos de acción central tales como naloxona, neuropéptido-Y, galanina, hormona liberadora de corticotropina y colecistocinina; un agonista colinérgico tal como poridostigmina; un esfingolípido tal como un lisoesfingolípido o sus derivados; fármacos termogénicos tales como hormona tiroidea; efedrina; agonistas beta-adrenérgicos; fármacos que afectan el tracto gastrointestinal tales como inhibidores de enzimas, por ejemplo tetrahidrolipostatina, alimentos indigeribles tales como poliéster de sacarosa, e inhibidores de vaciamiento gástrico tales como ácido treoclorocítrico o sus derivados; agonistas beta-adrenérgicos tales como isoproterenol y yohimbina; aminofhilina para incrementar los efectos símil beta adrenérgicos de yohimbina, un fármaco bloqueador α_2-

adrenérgico tal como clonidina sola o en combinación con un a péptido liberador de hormona de crecimiento; fármacos que interfieren con la absorción intestinal tales como biguanidas tales como metformina y fenformina; rellenos de masa tales como metilcelulosa; fármacos bloqueadores metabólicos tales como hidroxicitrato; progesterona; agonistas de colecistocinina; moléculas pequeñas que simulan cetoácidos; agonistas de hormona liberadora de corticotropina; un compuesto inhibidor de prolactina relacionado con ergot para reducir los depósitos de grasa del organismo (patente de los Estados Unidos N.° 4.783.469 emitida el 8 de noviembre de 1988); beta-3-agonistas; bromocriptina; antagonistas péptidos opioides; antagonistas de neuropéptido Y; antagonistas de receptor de glucocorticoides; agonistas de hormona del crecimiento; sus combinaciones; etc.

Tal como se usa en la presente, "insulina" se refiere a cualquiera y todas las sustancias que tienen acción de insulina, y se ejemplifican, por ejemplo, animal insulina extraída de páncreas bovino o porcino, insulina humana semisintética que es sintetizada enzimáticamente a partir de insulina extraída de páncreas porcino e insulina humana sintetizada por técnicas de ingeniería genética que generalmente usan *E. coli* o levaduras, etc. Además, la insulina puede incluir un complejo de insulina-zinc que contiene aproximadamente 0,45 a 0,9 (p/p)% de zinc, protamina-insulina-zinc producida a partir de cloruro de zinc, sulfato de protamina e insulina, etc. La insulina puede estar en la forma de sus fragmentos o derivados, por ejemplo, INS-1. La insulina también puede incluir sustancias

símil insulina tales como L83281 y agonistas de insulina. Si bien la insulina está disponible en diversos tipos tales como de acción superinmediata, de acción inmediata, de acción bimodal, de acción intermedia, de acción prolongada, etc., estos tipos se pueden seleccionar en forma adecuada de acuerdo con la condición del paciente.

Una "composición terapéutica", tal como se usa en la presente, se define por comprender un antagonista de IL-17 (incluso antagonistas IL-17A y IL-17F) y un portador farmacéuticamente aceptable, tal como agua, minerales, proteínas, y otros excipientes conocidos por los expertos en la técnica.

Las expresiones, "antagonista", "antagonistas de IL-17 (A y/o F)", "antagonistas de IL-17 (A y/o F)" y similares dentro del alcance de la presente invención se entienden con inclusión de cualquier molécula que interfiere con la función de IL-17, tal como IL-17A y/o IL-17F, o que bloquea o neutraliza una actividad relevante de IL-17 (tal como IL-17A y/o F), por cualquier medio, según la indicación tratada. Puede prevenir la interacción entre IL-17 (incluso IL-17 y IL-17F) y uno o más de sus receptores. Dichos agentes logran este efecto de diversas maneras. Por ejemplo, la clase de antagonistas que "neutralizan" una actividad de IL-17 se fijan a IL-17, o a un receptor de IL-17, con suficiente afinidad y especificidad para interferir con IL-17 tal como se define más adelante. Un anticuerpo "que fija" IL-17, o un receptor de IL-17 (por ejemplo IL-17Rc), es una capaz de fijar dicho antígeno suficiente afinidad para que el anticuerpo sea útil como agente terapéutico dirigido contra una célula que expresa el receptor IL-17 o IL-17. El

término "antagonista de IL-17" se usa en referencia a cualquiera y todos los antagonistas de IL-17A, IL-17F y IL-17A/F.

Se incluyen en este grupo de antagonistas, por ejemplo, los anticuerpos dirigidos contra IL-17 o sus porciones, reactivos con IL-17, o un receptor de IL-17 o sus porciones, con inclusión específicamente de los anticuerpos contra IL-17A y/o IL-17F y IL-17Rc. El término también incluye cualquier agente que pueda interferir con la sobreproducción de IL-17A y/o IL-17F o antagonizar al menos un receptor de IL-17 (por ejemplo IL-17A y/o IL-17F), tal como IL-17Rc. Dichos antagonistas pueden estar en la may forma de híbridos quiméricos, de utilidad para combinar la función del agente con una proteína portadora a fin de incrementar la vida media sérica del agente terapéutico o conferir tolerancia cruzada de especies. En consecuencia, los ejemplos de dichos antagonistas incluyen moléculas bioorgánicas (por ejemplo, peptidomiméticos), anticuerpos, proteínas, péptidos, glucoproteínas, glucopéptidos, glucolípidos, polisacáridos, oligosacáridos, ácidos nucleicos, agentes farmacológicos y sus metabolitos, secuencias de control de transcripción y traducción, y similares. En una forma de realización preferida, el antagonista es un anticuerpo que tiene las propiedades deseadas de fijación de IL-17A y/o IL-17F, y de prevención de su interacción con un receptor, con preferencia IL-17Rc.

El término "anticuerpo" se usa en el sentido más amplio y cubre específicamente, por ejemplo, anticuerpos monoclonales aislados anti-IL-17A/F o anti-IL17A o anti-IL-17F (incluso anticuerpos agonistas, antagonistas y

neutralizantes), las correspondientes composiciones de anticuerpo con especificidad poliepitópica, anticuerpos policlonales, anticuerpos de cadena única, y fragmentos de anticuerpo (ver más adelante) siempre que exhiban la actividad biológica o inmunológica deseada.

La unidad básica de anticuerpo de cuatro cadenas es una glucoproteína heterotetramérica compuesta por dos cadenas idénticas livianas (L) y dos cadenas idénticas pesadas (H) (un anticuerpo IgM consiste de 5 de las unidades básicas heterotetraméricas junto con un polipéptido adicional denominado cadena J, y en consecuencia contiene 10 sitios de fijación del antígeno, mientras que los anticuerpos IgA secretados se pueden polimerizar para formar ensamblados polivalentes que comprenden 2-5 de las unidades básicas de cuatro cadenas junto con la cadena J). En el caso de IgG, la unidad de cuatro cadenas es de general aproximadamente 150.000 dalton. Cada cadena L está ligada a una cadena H mediante un enlace disulfuro covalente, mientras que las dos cadenas H están ligadas entre sí por uno o más enlaces disulfuro según el isotipo de cadena H. Cada cadena H y L también presenta puentes disulfuro intracatenarios a espacios regulares. Cada cadena H tiene en el terminal N un dominio variable (V_H) seguido de tres dominios constantes (C_H) para cada una de las cadenas α y γ y cuatro dominios C_H para los isotipos μ y ε. Cada cadena L tiene en el N terminal, un dominio variable (V_L) seguido de un dominio constante (C_L) en el otro extremo. El V_L se alinea con el V_H y el C_L se alinea con el primer dominio constante de la cadena pesada (C_{H1}). Se cree que residuos particulares de aminoácidos forman una interfaz entre los dominios variables

de las cadenas livianas y las cadenas pesadas. El apareamiento de V_H y V_L forma en conjunto un sitio único de fijación del antígeno. Para la estructura y las propiedades de las diferentes clases de anticuerpos, ver, por ejemplo, Basic and Clinical Immunology, 8° edición, Daniel P. Stites, Abba I. Terr y Tristram G. Parslow (eds.), Appleton & Lange, Norwalk, Conn., 1994, página 71 y Capítulo 6.

La cadena L proveniente de cualquier especie de vertebrado se asigna a uno de dos tipos claramente diferenciados, denominados kappa y lambda, sobre la base de las secuencias de aminoácidos de sus dominios constantes. Según la secuencia de aminoácidos del dominio constante de sus cadenas pesadas (C_H), las inmunoglobulinas se pueden asignar a diferentes clases o isotipos. Hay cinco clases de inmunoglobulinas: IgA, IgD, IgE, IgG, e IgM, que tienen cadenas pesadas designadas α, δ, ε, γ, y μ, respectivamente. Las clases γ y α están subdivididas en subclases sobre la base de diferencias relativamente menores de la secuencia y la función de C_H, por ejemplo, los humanos expresan las siguientes subclases: IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 e IgA2.

El término "variable" se refiere al hecho de que ciertos segmentos de los dominios variables difieren extensamente en secuencia entre los anticuerpos. El dominio V media la fijación al antígeno y define la especificidad de un anticuerpo particular por su antígeno particular. Sin embargo, la variabilidad no está distribuida en forma uniforme a través del espectro de 110 aminoácidos de los dominios variables. En cambio, las regiones V consisten de porciones relativamente invariables denominadas regiones marco (FR) de 15-30 aminoácidos, separadas por regiones más

cortas de extrema variabilidad denominadas "regiones hipervariables" que miden cada una 9-12 aminoácidos de longitud. Los dominios variables de las cadenas pesadas y livianas nativas comprenden cada uno cuatro FR, que por lo general adoptan una configuración de lámina beta, conectadas por tres regiones hipervariables, las cuales forman giros que conectan, y en algunos casos forman parte de la estructura de lámina beta. Las regiones hipervariables de cada cadena se mantienen unidas en estrecha proximidad mediante las FR y, con las regiones hipervariables provenientes de la otra cadena, contribuyen a la formación del sitio de fijación del antígeno de los anticuerpos (ver Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5° Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)). Los dominios constantes no intervienen directamente en la fijación de un anticuerpo a un antígeno, pero exhiben diversas funciones efectoras, tales como la participación del anticuerpo en la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpo (ADCC).

El término "región hipervariable" cuando se usa en la presente se refiere a los residuos de aminoácidos de un anticuerpo que son responsables de la unión con el antígeno. La región hipervariable generalmente comprende residuos de aminoácidos provenientes de una "región determinante de complementariedad" o "CDR" (por ejemplo alrededor de aproximadamente los residuos 24-34 (L1), 50-56 (L2) y 89-97 (L3) en V_L, y alrededor de aproximadamente 1-35 (H1), 50-65 (H2) y 95-102 (H3) en V_H; Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5° Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md.

(1991)) y/o los residuos de un "giro hipervariable" (por ejemplo los residuos 26-32 (L1), 50-52 (L2) y 91-96 (L3) en V_L, y 26-32 (H1), 53-55 (H2) y 96-101 (H3) en V_H; Chothia y Lesk J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987)).

La expresión "anticuerpo monoclonal" tal como se usa en la presente se refiere a un anticuerpo obtenido de una población de anticuerpos sustancialmente homogéneos, es decir, los anticuerpos individuales que comprenden la población son idénticos excepto respecto de posibles mutaciones que ocurren naturalmente, que pueden estar presentes en cantidades menores. Los anticuerpos monoclonales son altamente específicos, y están dirigidos contra un único sitio antigénico. Además, en contraste con las preparaciones de anticuerpos policlonales, que incluyen diferentes anticuerpos dirigidos contra diferentes determinantes (epitopos), cada anticuerpo monoclonal está dirigido contra un único determinante en el antígeno. Además de su especificidad, los anticuerpos monoclonales son ventajosos en cuanto a que se pueden sintetizar sin contaminaciones de otros anticuerpos. Dicho anticuerpo monoclonal generalmente incluye un anticuerpo que comprende una región variable que se fija a un blanco, en donde el anticuerpo se obtiene por un proceso que incluye la selección del anticuerpo de una pluralidad de anticuerpos. Por ejemplo, el proceso de selección puede ser la selección de un clon singular dentro de una pluralidad de clones, tales como un pool de clones de hibridoma, clones de fago o clones de ADN recombinante. Se debe entender que el anticuerpo seleccionado también se puede alterar, por ejemplo, para mejorar la afinidad por el objetivo, para

humanizar el anticuerpo, para mejorar su producción en cultivos celulares, para reducir su inmunogenicidad *in vivo*, para crear un anticuerpo multiespecífico, etc., y que un anticuerpo que comprende la secuencia alterada de la región variable es también un anticuerpo monoclonal de la presente invención. Además de su especificidad, las preparaciones de anticuerpo monoclonal son ventajosas en cuanto a que generalmente no están contaminadas con otras inmunoglobulinas. El modificador "monoclonal" indica el carácter del anticuerpo por ser obtenido de una población de anticuerpos sustancialmente homogéneos, y no se debe interpretar como que requiere la producción del anticuerpo por cualquier método particular. Por ejemplo, los anticuerpos monoclonales usados de acuerdo con la presente invención se pueden fabricar por diversas técnicas, incluso el método del hibridoma (por ejemplo, Kohler et al., Nature, 256:495 (1975); Harlow et al., Antibodies: A Laboratory Manual, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2° ed. 1988); Hammerling et al., en: Monoclonal antiobodies and T-Cell Hybridomas 563-681, (Elsevier, N. Y., 1981), métodos de ADN recombinante (ver, por ejemplo, la patente de los Estados Unidos N.° 4.816.567), tecnologías de disposición de fagos (ver, por ejemplo, Clackson et al., Nature, 352:624-628 (1991); Marks et al., J. Mol. Biol., 222:581-597 (1991); Sidhu et al., J. Mol. Biol. 338(2):299-310 (2004); Lee et al., J. Mol. Biol. 340(5):1073-1093 (2004); Fellouse, Proc. Nat. Acad. Sci. USA 101(34):12467-12472 (2004); y Lee et al. J. Immunol. Methods 284(1-2):119-132 (2004) y tecnologías para la producción de anticuerpos humanos o símil human de animales que tienen partes o la totalidad de los loci de las

inmunoglobulinas humanas o genes que codifican secuencias de inmunoglobulinas humanas (ver, por ejemplo, los documentos WO 98/24893, WO/9634096, WO/9633735, y WO/9110741, Jakobovits et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:2551 (1993); Jakobovits et al., Nature, 362:255-258 (1993); Bruggemann et al., Year in Immuno., 7:33 (1993); las patentes de los Estados Unidos N.° 5.545.806. 5.569.825. 5.591.669 (todas de GenPharm); 5.545.807; el documento WO 97/17852, las patentes de los Estados Unidos N.° 5.545.807; 5.545.806; 5.569.825; 5.625.126; 5.633.425; y 5.661.016, y Marks et al., Bio/Technology, 10: 779-783 (1992); Lonberg et al., Nature, 368: 856-859 (1994); Morrison, Nature, 368: 812-813 (1994); Fishwild et al., Nature Biotechnology, 14: 845-851 (1996); Neuberger, Nature Biotechnology, 14: 826 (1996); y Lonberg y Huszar, Intern. Rev. Immunol., 13: 65-93 (1995).

Los anticuerpos monoclonales en la presente incluyen anticuerpos "quiméricos" en los cuales una porción de la cadena pesada y/o la cadena liviana es idéntica u homóloga a las correspondientes secuencias en anticuerpos derivados de una especie particular o pertenecientes a un anticuerpo de una clase o subclase particular, mientras que el resto de la(s) cadena(s) es idéntica u homóloga a las correspondientes secuencias en anticuerpos derivados de otra especie o pertenecientes a un anticuerpo de otra clase o subclase particular, así como fragmentos de dichos anticuerpos, siempre que exhiban la actividad biológica deseada (ver la patente de los Estados Unidos N.° 4.816.567; y Morrison et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81:6851-6855 (1984)). Los anticuerpos quiméricos de interés en la

presente incluyen anticuerpos "primatizados" que comprenden secuencias de dominio variable fijadoras de antígeno derivadas de un primate no humano (por ejemplo mono del viejo mundo, simio etc.), y las secuencias de la región constante humana.

Un anticuerpo "intacto" es aquel que comprende un sitio fijador del antígeno así como una C_L y al menos dominios constantes de la cadena pesada, CH1, CH2 y CH3. Los dominios constantes pueden ser dominios constantes de la secuencia nativa (por ejemplo dominios constantes de la secuencia nativa humana) o la secuencia variante de aminoácidos correspondiente. Con preferencia, el anticuerpo intacto tiene una o más funciones efectoras.

Los "fragmentos de anticuerpo" comprenden una porción de un anticuerpo intacto, con preferencia la región fijadora de antígeno o variable del anticuerpo intacto. Los ejemplos de fragmentos de anticuerpo incluyen Fab, Fab', $F(ab')_2$, y los fragmentos Fv; diacuerpos; anticuerpos lineales (ver la patente de los Estados Unidos N.° 5.641.870, Ejemplo 2; Zapata et al., Protein Eng. 8(10): 1057-1062 [1995]); moléculas de anticuerpo monocatenarias; y anticuerpos multiespecíficos formados a partir de fragmentos de anticuerpo. En una forma preferida de realización, el fragmento es "funcional", es decir, retiene cualitativamente la capacidad del correspondiente anticuerpo intacto para fijar los polipéptidos IL-17A y IL-17F objetivos y, si el anticuerpo intacto también inhibe la actividad biológica o función de IL-17A/F, también retiene cualitativamente dicha propiedad inhibitoria. La retención cualitativa significa que se mantiene el tipo de la actividad, pero el grado de

afinidad de unión y/o actividad puede diferir.

La digestión con papaína de los anticuerpos produce dos fragmentos fijadores de antígeno idénticos, denominados fragmentos "Fab", y un fragmento residual "Fc", una designación que refleja la capacidad para cristalizad fácilmente. El fragmento Fab consiste de toda una cadena L además del dominio de la región variable de la cadena H (V_H), y el primer dominio constante de una cadena pesada (C_{H1}). Cada fragmento Fab es monovalente con respecto a la fijación del antígeno, es decir, posee un único sitio fijador del antígeno. El tratamiento con pepsina de un anticuerpo produce un único fragmento grande $F(ab')_2$ que a groso modo se corresponde con dos fragmentos Fab unidos por enlaces disulfuro que tienen actividad fijadora de antígeno divalente y aún es capaz de formar enlaces cruzados con el antígeno. Los fragmentos Fab' difieren de los fragmentos Fab por tener pocos residuos adicionales en el terminal carboxilo del dominio C_{H1} incluso una i más cisteínas provenientes de la región bisagra del anticuerpo. Fab'-SH es la designación en la presente para Fab', en donde el(os) residuo(s) de cisteína de los dominios constantes portan un grupo tiol libre. Los fragmentos $F(ab')_2$ de anticuerpo originalmente se producían como pares de fragmentos Fab' que tenían cisteínas de bisagra entre ellos. También se conocen otros acoplamientos de fragmentos de anticuerpo.

El fragmento Fc comprende las porciones carboxiterminales de ambas cadenas H que se mantienen unidas mediante disulfuros. Las funciones efectoras de los anticuerpos se determinan mediante las secuencias de la región Fc, en donde dicha región también es la parte

reconocida por los receptores Fc (FcR) que se encuentra en ciertos tipos de células.

"Fv" es el mínimo fragmento de anticuerpo que contiene un sitio de reconocimiento y de fijación del antígeno completo. Este fragmento consiste de un dímero de un dominio de región variable de cadena pesada y un dominio de región variable de cadena liviana en estrecha asociación no covalente. Del plegamiento de estos dos dominios emanan seis giros hipervariables (3 giros de cada una de las cadenas H y L) que contribuyen con los residuos de aminoácidos en la fijación del antígeno y confieren especificidad de fijación del antígeno al anticuerpo. Sin embargo, incluso un dominio variable aislado (o la mitad de un Fv que comprende sólo tres CDR específicos para un antígeno) tiene capacidad para reconocer y fijar el antígeno, aunque con menor afinidad que la totalidad del sitio de unión.

"Fv monocatenario" también abreviado "sFv" o "scFv" son fragmentos de anticuerpo que comprenden los dominios V_H y V_L de anticuerpo conectados en una única cadena de polipéptidos. Con preferencia, el polipéptido sFv también comprende un ligador de polipéptido entre los dominios V_H y V_L, lo cual permite al sFv formar la estructura deseada para la fijación del antígeno. Para una revisión de sFv, ver Pluckthun en The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenburg y Moore eds., Springer-Verlag, Nueva York, pp. 269-315 (1994); Borrebaeck 1995, infra.

El término "diacuerpos" se refiere a pequeños fragmentos de anticuerpo preparadas al construir fragmentos sFv (ver el párrafo precedente) con ligadores cortos (aproximadamente 5-10 residuos) entre los dominios V_H y V_L

de manera tal que se logra el apareamiento intercatenario pero no intracatenario de los dominios V, lo cual da por resultado un fragmento bivalente, es decir, un fragmento que tiene dos sitios fijadores de antígeno. Los diacuerpos biespecíficos son heterodímeros de dos fragmentos sFv "de cruzamiento" en los cuales los dominios V_H y V_L de los dos anticuerpos se encuentren en diferentes cadenas de polipéptidos. Los diacuerpos se describen más completamente, por ejemplo, en los documentos EP 404,097; WO 93/11161; y Hollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:6444-6448 (1993).

Las formas "humanizadas" de los anticuerpos no humanos (por ejemplo, roedores) son anticuerpos quiméricos que contienen mínimas secuencias derivadas del anticuerpo no humano. En su mayor parte, los anticuerpos humanizados son inmunoglobulinas humanas (anticuerpo receptor) en el cual los residuos provenientes de una región hipervariable del receptor están reemplazados por residuos provenientes de una región hipervariable de una especie no humana (anticuerpo donante) tal como ratón, rata, conejo o primate no humano que tiene la especificidad, la afinidad y la capacidad adecuada del anticuerpo. En algunas instancias, los residuos de la región de marco (FR) de la inmunoglobulina humana son reemplazados por los correspondientes residuos no humanos. Además, los anticuerpos humanizados pueden comprender residuos que no se encuentran en el anticuerpo del receptor o en el anticuerpo del donante. Estas modificaciones se realizan para refinar aún más el desempeño del anticuerpo. En general, el anticuerpo humanizado comprende sustancialmente la totalidad de al menos uno, y generalmente

dos dominios variables, en los cuales la totalidad o sustancialmente la totalidad de los giros hipervariables se corresponden a los de una inmunoglobulina no humana y la totalidad o sustancialmente la totalidad de los FR son los de una secuencia de inmunoglobulina humana. El anticuerpo humanizado opcionalmente también comprende al menos una porción de una región constante de inmunoglobulina (Fc), generalmente la de una inmunoglobulina humana. Para más detalles, ver Jones et al., Nature 321:522-525 (1986); Riechmann et al., Nature 332:323-329 (1988); y Presta, Curr. Op. Struct. Biol. 2:593-596 (1992).

La expresión "anticuerpo multiespecífico" se usa en el sentido más amplio y cubre específicamente un anticuerpo que comprende un dominio variable de cadena pesada (V_H) y un dominio variable de cadena liviana (V_L), en donde la unidad V_HV_L tiene especificidad poliepitópica (es decir, es capaz de fijarse a dos epitopos diferentes en una molécula biológica o cada epitopo en una molécula biológica diferente). Dichos anticuerpos multiespecíficos incluyen, sin limitaciones, anticuerpos de longitud total, anticuerpos que tienen dos o más dominios V_L y V_H, fragmentos de anticuerpo tales como Fab, Fv, dsFv, scFv, diacuerpos, diacuerpos y triacuerpos biespecíficos, fragmentos de anticuerpo que se han ligado en forma covalente o no covalente.

"Especificidad poliepitópico" se refiere a la capacidad para ligarse específicamente a dos o más epitopos diferentes en el mismo o diferente(s) objetivo(s).

"Monoespecífico" se refiere a la capacidad para fijarse sólo a más de un epitopo. De acuerdo con una forma de

realización, el anticuerpo multiespecífico en una forma de IgG1 se fija a cada epitopo con una afinidad de 5 μM a 0,001 pM, 3 μM a 0,001 pM, 1 μM a 0,001 pM, 0,5 μM a 0,001 pM o 0,1 μM a 0,001 pM.

Un "anticuerpo con reacciones cruzadas" es un anticuerpo que reconoce epitopos idénticos o similares en más de un antígeno. En consecuencia, los anticuerpos con reacciones cruzadas de la presente invención reconocen epitopos idénticos o similares presentes en IL-17A y IL-17F. En una forma particular de realización, el anticuerpo con reacciones cruzadas usa el mismo o esencialmente el mismo paratopo para fijarse a IL-17A y IL-17F. Con preferencia, el anticuerpo con reacciones cruzadas en la presente también bloquea la función de IL-17A y IL-17F (actividad).

El término "paratopo" se usa en la presente para referirse a la parte de un anticuerpo que se fija a un antígeno objetivo.

Un "anticuerpo dependiente de especie" por ejemplo, un anticuerpo de mamífero anti-IL-17A/F, es un anticuerpo que tiene una afinidad de unión más fuerte por un antígeno proveniente de una especie de mamífero que la por un homólogo homologue de dicho antígeno proveniente de una segunda especie de mamífero. Normalmente, el anticuerpo dependiente de especie "se fija específicamente" a un antígeno humano (es decir, tiene un valor de afinidad de unión (Kd) no superior a aproximadamente 1 x 10^{-7} M, con preferencia no superior a aproximadamente 1 x 10^{-8} M y con mayor preferencia no superior a aproximadamente 1 x 10^{-9} M) pero tiene afinidad de unión por un homólogo del antígeno de una segunda especie de mamífero no humano que es al menos

aproximadamente 50 veces, o al menos aproximadamente 500 veces, o al menos aproximadamente 1000 veces más débil que su afinidad de unión por el antígeno humano. El anticuerpo dependiente de especie puede ser de cualquiera de los diversos tipos de anticuerpo definidos con anterioridad, pero con preferencia es un anticuerpo humanizado o humano.

Un anticuerpo "que se fija" a un antígeno de interés, es uno que se fija al antígeno con suficiente afinidad para que el anticuerpo sea útil como agente de diagnóstico y/o terapéutico al dirigirse a la células o el tejido que expresa el antígeno, y no forma significativamente reacciones cruzadas con otras proteínas. En dichas formas de realización, el grado de fijación del anticuerpo a una proteína "non objetivo" será inferior a aproximadamente el 10% de la fijación del anticuerpo a su proteína objetivo particular, según se determina por análisis de clasificación de células activadas por fluorescencia (FACS) o por radioinmunoprecipitación (RIA). Con respecto de la fijación de un anticuerpo a una molécula objetivo, el término "unión específica" o "fijación específica a" o es "específico para" un polipéptido particular o un epitopo con un objetivo de polipéptido particular significa la unión que es mediblemente diferente de una interacción no específica. La unión específica se puede medir, por ejemplo, al determinar la unión de una molécula comparada con la unión de una molécula control, la cual generalmente es una molécula de estructura similar que no tiene actividad de fijación. Por ejemplo, se puede determinar la unión específica por competencia con una molécula control que es similar al objetivo, por ejemplo, un exceso de un objetivo no rotulado.

En este caso, se indica la unión específica si la fijación del objetivo rotulado a una sonda está inhibida competitivamente por un exceso del objetivo rotulado. El término "unión específica" o "fijación específica a" o es "específico para" un polipéptido particular o un epitopo en un objetivo de polipéptido particular tal como se usa en la presente puede ser exhibido, por ejemplo, por una molécula que tiene una Kd para el objetivo de al menos aproximadamente 10^{-4} M, alternativamente al menos aproximadamente 10^{-5} M, alternativamente al menos aproximadamente 10^{-6} M, alternativamente al menos aproximadamente 10^{-7} M, alternativamente al menos aproximadamente 10^{-8} M, alternativamente al menos aproximadamente 10^{-9} M, alternativamente al menos aproximadamente 10^{-10} M, alternativamente al menos aproximadamente 10^{-11} M, alternativamente al menos aproximadamente 10^{-12} M, o mayor. En una forma de realización, el término "unión específica" se refiere a una unión en la cual una molécula se fija a un polipéptido particular o epitopo en un polipéptido particular sin fijarse sustancialmente a cualquier otro polipéptido o epitopo de polipéptido. En formas preferidas de realización, la afinidad específica de unión es al menos de aproximadamente 10^{-10} M.

Las "funciones efectoras" de un anticuerpo se refieren a las actividades biológicas atribuibles a la región Fc (una región Fc de secuencia nativa o una secuencia de aminoácidos de una región variante de Fc) de un anticuerpo, y varían con el isotipo del anticuerpo. Los ejemplos de efectos y funciones del anticuerpo incluyen: fijación de C1q y

citotoxicidad dependiente del complemento; fijación del receptor de Fc; citotoxicidad dependiente de anticuerpo mediada por células (ADCC); fagocitosis; regulación hacia debajo de los receptores de superficie celular (por ejemplo, receptor de células B); y activación de células B.

"Citotoxicidad dependiente de anticuerpo mediada por células" o "ADCC" se refiere a una forma de citotoxicidad en la cual la Ig secretada ligada a los receptores de Fc (FcR) presenten en ciertas células citotóxicas (por ejemplo, las células Natural Killer (NK), neutrófilos, y macrófagos) permiten a estas células efectoras citotóxicas fijarse específicamente a una célula objetivo portadora de antígeno y luego eliminar la células objetivo mediante citotoxinas. El "brazo" de anticuerpo de las células citotóxicas es un requerimiento absoluto para dicha eliminación. Las células primarias para mediar ADCC, las células NK, sólo expresan FcγRIII, mientras que los monocitos expresan FcγRI, FcγRII y FcγRIII. La expresión de FcR en las células hematopoyéticas se resume en la Tabla 3 de la página 464 de Ravetch y Kinet, Annu. Rev. Immunol. 9:457-92 (1991). Para evaluar la actividad ADCC de una molécula de interés, se puede realizar un ensayo de ADCC in vitro, tal como el descrito en las patentes de los Estados Unidos Nros. 5.500.362 ó 5.821.337. Las células efectoras útiles para analizar incluyen células mononucleares de sangre periférica (PBMC) y células Natural Killer (NK). Alternativamente, o además, la actividad de ADCC de la molécula de interés puede ser evaluada in vivo, por ejemplo, en un moleo animal tal como el descrito en Clynes et al. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 95:652-656 (1998).

El "receptor de Fc" o "FcR" describe un receptor que se fija a la región Fc de un anticuerpo. El FcR preferido es un FcR humano de secuencia nativa. Además, un FcR preferido es uno que se fija a un anticuerpo IgG (un receptor gamma) e incluye receptores de las subclases FcγRI, FcγRII y FcγRIII, incluso las variantes alélicas y alternativamente las formas empalmadas de estos receptores. Los receptores FcγRII incluyen FcγRIIA (un "receptor activador") y Fcγ RIIB (un "receptor inhibidor"), los cuales tienen secuencias de aminoácidos similares que difieren principalmente en sus dominios citoplasmáticos. El receptor activador FcγRIIA contiene un motivo de activación basado en un inmunorreceptor de tirosina (ITAM) en su dominio citoplasmático. El receptor inhibidor FcγRIIB contiene un motivo de inhibición basado en un inmunorreceptor de tirosina (ITIM) en su dominio citoplasmático. (ver la revisión M. en Daeron, Annu. Rev. Immunol. 15:203-234 (1997)). Los FcR son revistos en Ravetch y Kinet, Annu. Rev. Immunol. 9:457-492 (1991); Capel et al., Immunomethods 4:25-34 (1994); y de Haas et al., J. Lab. Clin. Med. 126:330-41 (1995). Otros FcR, incluso los identificados en el futuro, están abarcados por el término "FcR" en la presente. El término también incluye el receptor neonatal, FcRn, el cual es responsable de la transferencia de IgG maternos al feto (Guyer et al., J. Immunol. 117:587 (1976) y Kim et al., J. Immunol. 24:249 (1994)).

Las "células efectoras humanas" son leucocitos que expresan uno o más FcR y realizan funciones efectoras. Con preferencia, las células expresan al menos FcγRIII y realizan funciones efectoras de ADCC. Los ejemplos de

leucocitos humanos que median ADCC incluyen las células mononucleares de sangre periférica (PBMC), las células natural killer (NK), los monocitos, las células T citotóxicas y los neutrófilos; con preferencia por las PBMC y las células NK. Las células efectoras se pueden aislar de una fuente nativa, por ejemplo, de la sangre.

La "citotoxicidad dependiente del complemento" o "CDC" se refiere a la lisis de una célula objetivo en presencia de complemento. La activación de la vía clásica del complemento se inicia por la fijación del primer componente del sistema del complemento (C1q) a los anticuerpos (de la subclase adecuada) los cuales están unidos a su antígeno cognado. Para evaluar la activación del complemento, se puede realizar un ensayo de CDC, por ejemplo, tal como se describe en Gazzano-Santoro et al., Immunol. Methods 202:163 (1996).

Los términos "neutralizar" y "neutralizar la actividad de" se usan en la presente con el significado, por ejemplo, de bloquear, impedir, reducir, contrarrestar la actividad, o transformar en ineficaz la IL-17 (por ejemplo IL-17A y/o IL-17F) por cualquier mecanismo. En consecuencia, el antagonista puede impedir un proceso de fijación necesario para la activación de IL-17.

Por "anticuerpo neutralizante" se entiende una molécula de anticuerpo definida como en la presente que es capaz de bloquear o reducir significativamente una función efectora de IL-17 (incluso IL-17A y/o IL-17F). Por ejemplo, un anticuerpo neutralizante puede inhibir o reducir la capacidad de IL-17 (por ejemplo IL-17A y/o IL-17F) para interactuar con un receptor de IL-17, tal como IL-17Rc. Alternativamente, el anticuerpo neutralizante puede inhibir

o reducir la capacidad de IL-17 para bloquear la vía de señales del receptor IL-17. El anticuerpo neutralizante también puede fijarse inmunoespecíficamente a IL-17 en un inmunoensayo para la actividad de IL-17. Es característico del "anticuerpo neutralizante" de la invención que retiene su actividad funcional situaciones in vitro e in vivo.

B. Descripción detallada

1. Usos terapéuticos

La resistencia a insulina es una condición patológica en la cual la presencia de insulina produce una respuesta biológica subnormal. En términos clínicos, la resistencia a insulina está presente cuando los niveles normales o elevados de glucosa sanguínea persisten frente a niveles normales o elevados de insulina. En esencia representa una inhibición de la síntesis de glucógeno, por lo cual la síntesis de glucógeno basal o estimulada por insulina, o ambos, están reducidos por debajo de los niveles normales. La resistencia a insulina juega un papel importante en la diabetes tipo 2, tal como se demuestra por el hecho de que la hiperglucemia presente en la diabetes tipo 2 en ocasiones se puede revertir mediante dieta o pérdida de peso en forma suficiente, aparentemente, para restablecer la sensibilidad de los tejidos periféricos a la insulina.

La presente invención se ocupa del tratamiento de la resistencia a insulina o diabetes tipo 2 por administración de un antagonista de IL-17A y/o IL-17F. Tal como se analizó con anterioridad, el antagonista de IL-17A y/o IL-17F puede ser cualquier molécula que interfiere con la función de IL-

17A y/o IL-17F, o bloquea o neutraliza una actividad importante de IL-17A y/o F, por cualquier medio, según la indicación del tratamiento. Puede impedir la interacción entre IL-17A y/o IL-17F y uno o más de sus receptores, especialmente IL-17Rc. Dichos agentes logran este efecto de diversas formas. Por ejemplo, la clase de antagonistas que neutralizan una actividad de IL-17A y/o IL-17F se fijarán a IL-17A y/o IL-17F, o a un receptor de IL-17A y/o IL-17F, especialmente IL-17Rc, con suficiente afinidad y especificidad para interferir con IL-17A y/o IL-17F.

2. Administración y formulaciones

El antagonista de IL-17 se puede administrar por cualquier vía adecuada, incluso una vía de administración parenteral tal como, sin limitaciones, intravenosa (IV), intramuscular (IM), subcutánea (SC), e intraperitoneal (IP), así como las vías transdérmica, bucal, sublingual, intrarrectal, intranasal e inhalatoria. La administración IV, IM, SC, e IP pueden ser por bolo o infusión, y en el caso de SC, también puede ser mediante un dispositivo implantable de liberación lenta, incluso, sin limitaciones bombas, formulaciones de liberación lenta, y dispositivos mecánicos. Con preferencia, la administración es sistémica.

Un método específicamente preferido para la administración de antagonista de IL-17 es por infusión subcutánea, particularmente mediante el uso de un dispositivo de infusión medida, tal como una bomba. Dicha bomba puede ser reutilizable o desechable, e implantable o de montaje externo. Las bombas de infusión de medicación que se emplean con utilidad con este fin incluyen, por ejemplo, las bombas descritas en las patentes de los Estados Unidos

Nros. 5.637.095, 5.569.186 y 5.527.307. Las composiciones se pueden administrar en forma continua desde dichos dispositivos, o en forma intermitente.

Las formulaciones terapéuticas de antagonistas de IL-17 adecuados para el almacenamiento incluyen mezclas del antagonista que tienen el grado deseado de pureza con portadores, excipientes, o estabilizantes farmacéuticamente aceptables (Remington's Pharmaceutical Sciences 16° edición, Osol, A. Ed. (1980)), en la forma de formulaciones liofilizadas o soluciones acuosas. Los portadores, excipientes, o estabilizantes aceptables son no tóxicos para los receptores en las dosis y concentraciones empleadas, e incluyen buffer tales como fosfato, citrato, y otros ácidos orgánicos; antioxidantes que incluyen ácido ascórbico y metionina; conservantes (tales como cloruro de octadecildimetilbencilamonio; cloruro de hexametonio; cloruro de benzalconio, cloruro de bencetonio; fenol, alcohol butílico o bencílico; alquilparabenos tales como metil o propilparabeno; catecol; resorcinol; ciclohexanol; 3-pentanol; y m-cresol); polipéptidos de bajo peso molecular (inferior a aproximadamente 10 residuos); proteínas, tales como albúmina sérica, gelatina, o inmunoglobulinas; polímeros hidrofílicos tales como polivinilpirrolidona; aminoácidos tales como glicina, glutamina, asparagina, histidina, arginina, o lisina; monosacáridos, disacáridos, y otros hidratos de carbono que incluyen glucosa, manosa, o dextrinas; agentes quelantes tales como EDTA; azúcares tales como sacarosa, manitol, trehalosa o sorbitol; contraiones formadores de sales tales como sodio; complejos de metal (por ejemplo, complejos de Zn-proteína); y/o agentes

tensioactivos no iónicos tales como TWEENT™, PLURONICS™ o polietilenglicol (PEG). Las formulaciones liofilizadas preferidas de anticuerpo anti-IL-17 se describen en el documento WO 97/04801. Estas composiciones comprenden antagonistas de IL-17 que contienen desde aproximadamente 0,1 a 90% en peso del antagonista activo, con preferencia en una forma soluble, y más generalmente desde aproximadamente 10 a 30%.

Los ingredientes activos también pueden ser atrapados en microcápsulas preparadas, por ejemplo, mediante técnicas de coacervación o por polimerización interfacial, por ejemplo, hidroximetilcelulosa o microcápsulas de gelatina y microcápsulas de poli(metilmetacrilato), respectivamente en sistemas de suministro de fármacos coloidales (por ejemplo, liposomas, microesferas de albúmina, microemulsiones, nanopartículas y nanocápsulas) o en macroemulsiones. Dichas técnicas se describen en Remington's Pharmaceutical Sciences, supra.

Los antagonistas de IL-17A y/o IL-17F, tales como los anticuerpos anti-IL-17 descritos en la presente también se pueden formular como inmunoliposomas. Los liposomas que con tienen el anticuerpo se preparan por métodos conocidos en la técnica, tales como los descritos en Epstein et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 82: 3688 (1985); Hwang et al., Proc. Natl Acad. Sci. USA, 77: 4030 (1980); las patentes de los Estados Unidos N.° 4.485.045 y 4.544.545; y el documento WO 97/38731 publicado el 23 de octubre de 1997. Los liposomas con mayor tiempo de circulación se describen en la patente de los Estados Unidos N.° 5.013.556.

Los liposomas particularmente útiles se pueden generar mediante el método de evaporación de fase inversa con una composición lipídica que comprende fosfatidilcolina, colesterol y fosfatidiletanolamina derivada de PEG (PEG-PE). Los liposomas se extruyen a través de filtros de tamaño de poro definido a fin de obtener liposomas con el diámetro deseado. Los fragmentos Fab' del anticuerpo de la presente invención se pueden conjugar con los liposomas descritos en Martin et al., J. Biol. Chem., 257: 286-288 (1982) mediante una reacción de intercambio de disulfuros.

Se pueden preparar preparaciones de liberación prolongada. Los ejemplos adecuados de preparaciones de liberación prolongada incluyen matrices semipermeables de polímeros sólidos hidrofóbicos que contienen el anticuerpo, en donde las matrices tienen la forma de artículos conformados, por ejemplo, películas, o microcápsulas. Los ejemplos de matrices de liberación prolongada incluyen poliésteres, hidrogeles (por ejemplo, poli(2-hidroxietilmetacrilato), o poli(alcohol vinílico)), poliláctidos (patente de los Estados Unidos N.° 3.773.919), copolímeros de ácido L-glutámico y L-glutamato de etilo, copolímeros no degradables de etileno-acetato de vinilo, degradables de ácido láctico-ácido glicólico tales como LUPRON DEPOT™ (microesferas inyectables compuestas de copolímero de ácido láctico-ácido glicólico y acetato de leuprolida) y ácido poli-D-(-)-3-hidroxibutírico.

Cualquiera de los antagonistas específicos se puede unir a una proteína portadora con el fin de incrementar la vida media sérica del antagonista terapéutico. Por ejemplo, se puede obtener una quimera de inmunoglobulina soluble, tal

como se describe en la presente, para cada antagonista específico de IL-17 o su porción antagonista, según se describe en la patente de los Estados Unidos N.° 5.116.964. Las quimeras de inmunoglobulina se purifican fácilmente por cromatografía de la proteína A fijadora de IgG en sefarosa. Las quimeras tienen la capacidad de formar un dímero símil inmunoglobulina con la concomitante mayor avidez y vida media sérica.

Las formulaciones usadas para la administración in vivo deben ser estériles. Esto se logra fácilmente por filtración a través de membranas de filtración estériles.

La formulación en la presente también puede contener más de un compuesto activo necesario para la indicación particular tratada, con preferencia aquellos con actividades complementarias que no tengan efectos adversos entre ellos. Además, dicho compuesto activo se puede administrar por separado al mamífero tratado.

Por ejemplo, puede ser deseable proveer también un agente para el tratamiento de la resistencia a insulina para dichas indicaciones. Además, los pacientes con diabetes de tipo 2 que no responden a la dieta y la pérdida de peso pueden responder a la terapia con sulfanilureas junto con el antagonista de IL-17. La clase de fármacos de sulfonilurea incluye acetohexamida, clorpropamida, tolazamida, tolbutamida, glibenclamida, glibomurida, gliclazida, glipizida, gliquidona y glimidina. Otros agentes para este fin incluyen un reactivo autoinmune, un sensibilizador de insulina, tal como los compuestos de la familia de glitazonas, incluso los descritos en la patente de los Estados Unidos N.° 5.753.681, tales como troglitazona,

pioglitazona, englitazona, y compuestos relacionados, inhibidor de antagonistas de insulina de receptor tirosina quiinasa (patentes de los Estados Unidos N.° 5.939.269 y 5.939.269), el complejo IGF-1/IGFBP-3 (patente de los Estados Unidos N.° 6.040.292), antagonistas de la función de TNF-alfa (patente de los Estados Unidos N.° 6.015.558), agente liberador de hormona de crecimiento (patente de los Estados Unidos N.° 5.939.387), y anticuerpos contra amilina (patente de los Estados Unidos N.° 5.942.227). Otros compuestos que se pueden usar incluyen insulina (una o más insulinas diferentes), insulinomiméticos tales como una insulina de molécula pequeña, análogos de insulina tal como se destacó con anterioridad o sus fragmentos fisiológicamente activos, péptidos relacionados con insulina tal como se destacó con anterioridad, o sus análogos o fragmentos. Los agentes también se especifican en la definición anterior.

Para tratar la hipoinsulinemia, por ejemplo, se puede administrar insulina junta o separada del antagonista de IL-17.

Dichas moléculas adicionales están presentes en forma adecuada o se administran en combinación en cantidades que son efectivas para el fin pretendido, generalmente inferiores a las usadas si se administran solas sin el antagonista de IL-17. Si se formulan juntas, se pueden formular en las cantidades determinadas de acuerdo con, por ejemplo, el tipo de indicación, el sujeto, la edad y el peso corporal del sujeto, el estado clínico actual, el tiempo de administración, la forma de dosificación, el método de administración, etc. Por ejemplo, con preferencia se usa un

fármaco concomitante en una proporción de aproximadamente 0,0001 a 10.000 partes en peso respecto de una parte en peso del antagonista de IL-17 de la presente.

El uso del antagonista de IL-17 en combinación con insulina permite la reducción de la dosis de insulina comparado con la dosis en el momento de la administración de insulina sola. En consecuencia, el riesgo de complicación de los vasos sanguíneos y de inducción de la hipoglucemia, ambos problemas que pueden aparecer con la administración de grandes cantidades de insulina, es bajo. Para la administración de insulina a un paciente diabético adulto (peso corporal aproximadamente 50 kg), por ejemplo, la dosis por día es usualmente de aproximadamente 10 a 100 U (Unidades), con preferencia 10 a 80 U, pero esto puede ser inferior, según determinen los médicos. Para la administración de mejoradores de la secreción de insulina al mismo tipo de paciente, por ejemplo, la dosis por día es con preferencia de aproximadamente 0,1 a 1000 mg, con mayor preferencia de aproximadamente 1 a 100 mg. Para la administración de biguanidas al mismo tipo de paciente, por ejemplo, la dosis por día es con preferencia de aproximadamente 10 a 2500 mg, con mayor preferencia de aproximadamente 100 a 1000 mg. Para la administración de inhibidores de a-glucosidasas al mismo tipo de paciente, por ejemplo, la dosis por día es con preferencia de aproximadamente 0,1 a 400 mg, con mayor preferencia de aproximadamente 0,6 a 300 mg. La administración de ergoset, pramlintida, leptina, BAY-27-9955, o T-1095 a dichos pacientes se puede realizar en una dosis con preferencia de aproximadamente 0,1 a 2500 mg, con mayor preferencia de

aproximadamente 0,5 a 1000 mg. Todas las dosis anteriores se pueden administrar de una a varias veces por día.

El antagonista de IL-17 también se puede administrar junto con un tratamiento no farmacológico adecuado para la resistencia a insulina tal como un trasplante de páncreas.

Las dosis de antagonista administradas a un mamífero resistente a insulina o hipoinsulinémico pueden ser determinadas por el médico a la luz de las circunstancias relevantes, incluso la condición del mamífero, el tipo de antagonista, el tipo de indicación, y la vía de administración elegida. La dosis con preferencia tiene un nivel suficientemente bajo para no causar aumento de peso en cualquier grado significativo, y el médico puede determinar dicho nivel. Las glitazonas aprobadas para el tratamiento de diabetes tipo 2 humana (rosiglitazona/Avandia y pioglitazona/Actos) causan cierto aumento de peso, sin embargo se utilizan a pesar de los efectos secundarios debido a que han demostrado ser beneficiosas por su índice terapéutico. Los rangos de dosis presentados en la presente de ninguna manera pretenden limitar el alcance de la invención. Una cantidad "terapéuticamente efectiva" a los fines de la presente para hipoinsulinemia y resistencia a insulina se determina mediante los factores anteriores, pero por lo general es de aproximadamente 0,01 a 100 mg/kg peso corporal/día. La dosis preferida es de aproximadamente 0,1-50 mg/kg/día, con mayor preferencia de aproximadamente 0,1 a 25 mg/kg/día. Con aún mayor preferencia, cuando el antagonista de IL-17 se administra diariamente, la dosis intravenosa o intramuscular para un humano es de aproximadamente 0,3 a 10 mg/kg de peso corporal por día, con

mayor preferencia, de aproximadamente 0,5 a 5 mg/kg. Para la administración subcutánea, la dosis es con preferencia superior a la dosis terapéuticamente equivalente administrada por vía intravenosa o intramuscular. Con preferencia, la dosis subcutánea diaria para un humano es de aproximadamente 0,3 a 20 mg/kg, con mayor preferencia de aproximadamente 0,5 a 5 mg/kg para ambas indicaciones.

La invención contempla diversos esquemas de dosificación. La invención abarca esquemas de dosificación continua, en los cuales el antagonista de IL-17 se administra en forma regular (diaria, semanal, o mensual, según la dosis y la forma de dosificación) sin interrupciones sustanciales. Los esquemas de dosificación continua preferidos incluyen la infusión continua diaria, en la cual el antagonista de IL-17 es infundido cada día, y los esquemas de administración continua de bolos, en donde el antagonista de IL-17 se administra al menos una vez por día por inyección de bolo o por vías inhalatoria o intranasal. La invención también abarca esquemas de dosis discontinua. Los parámetros exactos de los esquemas de administración discontinua varían de acuerdo con la formulación, el método de suministro, y las necesidades clínicas del mamífero tratado. Por ejemplo, si el antagonista de IL-17 se administra por infusión, los esquemas de administración pueden comprender un primer período de administración seguido de un segundo período en el cual el antagonista de IL-17 no es administrado que es mayor, igual, o menor que el primer período.

Cuando la administración es por inyección de bolo, especialmente la inyección de bolo de una formulación de

liberación lenta, los esquemas de dosificación también pueden ser continuos en cuando a que el antagonista de IL-17 se administra cada día, o pueden ser discontinuos, con primeros y segundos períodos tal como se describió con anterioridad.

Los esquemas de administración continua y discontinua por cualquier método también incluyen esquemas de dosificación en los cuales la dosis se modula durante el primer período, de manera tal que, por ejemplo, al comienzo del primer período, la dosis es baja y se incrementa hasta el fin del primer período, la dosis es inicialmente alta y se disminuye durante el primer período, la dosis es inicialmente baja, se incrementa hasta un nivel pico, luego se reduce hacia el final del primer período, y cualquiera de sus combinaciones.

Los efectos de la administración de antagonista de IL-17 sobre la resistencia a insulina se pueden medir mediante diversos ensayos conocidos en la técnica. Más comúnmente, el alivio de los efectos de la diabetes darán por resultado un mejoramiento del control de la glucemia (medido por pruebas seriadas de la glucosa sanguínea), la reducción del requerimiento de insulina para mantener un buen control de la glucemia, reducción de la hemoglobina glucosilada, reducción de los niveles sanguíneos de los productos finales de la glucosilación avanzada (AGE), reducción del "fenómeno del amanecer", reducción de la cetoacidosis, y mejoramiento del perfil lipídico. Alternativamente, la administración de antagonista de IL-17 puede dar por resultado una estabilización de los síntomas de diabetes, tal como se indica por la reducción de los niveles de glucosa sanguínea,

reducción del requerimiento de insulina, reducción de la hemoglobina glucosilada y de AGE de la sangre, reducción de las complicaciones vasculares, renales, neurales y retinianos, reducción de las complicaciones del embarazo, y mejoramiento del perfil lipídico.

El efecto de reducción del azúcar sanguíneo del antagonista de IL-17 se puede evaluar mediante la determinación de la concentración de glucosa o Hb (hemoglobina)A_{1c} en plasma de sangre venosa en el sujeto antes y después de la administración, y luego comparar la concentración obtenida antes de la administración y después de la administración. HbA_{1c} significa hemoglobina glucosilada, y es producida gradualmente en respuesta a la concentración de glucosa sanguínea. En consecuencia, se cree que HbA_{1c} es importante como índice del control del azúcar en la sangre que no recibe influencias fácilmente por los cambios rápidos del azúcar en la sangre en los pacientes diabéticos.

La evidencia del tratamiento de la hipoinsulinemia se demuestra, por ejemplo, mediante un incremento de los niveles circulantes de insulina en el paciente.

La dosis para la reparación y la regeneración muscular generalmente es de aproximadamente 0,01 a 100 mg/kg de peso corporal, con mayor preferencia de 1 a 10 mg/kg según la condición del paciente, el tipo específico de reparación muscular deseado, etc. El esquema de dosificación es de acuerdo con el esquema estándar usado por un médico clínico en esta área. La evidencia de reparación o regeneración muscular se demuestra mediante diversas pruebas de medición bien conocidos en la técnica, incluso ensayos para la

proliferación y diferenciación de células musculares y una prueba de reacción en cadena de polimerasa (ver, por ejemplo, Best et al., J. Orthop. Res., 19: 565-572 (2001), que provee un análisis de los cambios de los niveles de mARN de los productos génicos derivados de mioblastos y fibroblastos en el músculo esquelético de conejo en curación mediante el uso de reacción en cadena de polimerasa cuantitativo de transcripción inversa).

3. Artículos de fabricación y kits

La invención también provee kits para el tratamiento de la resistencia a insulina y la hipoinsulinemia, y para la reparación y regeneración muscular. Los kits de la invención comprenden uno o más contenedores de antagonista de IL-17, con preferencia un anticuerpo, en combinación con un conjunto de instrucciones, generalmente instrucciones por escrito, referidas al uso y ala dosis de antagonista de IL-17 para el tratamiento de la resistencia a insulina o la hopoinsulinemia, o para cualquier otra enfermedad objetivo asociada con la resistencia a insulina. Las instrucciones incluidas en el kit generalmente incluyen información sobre la dosis, el esquema de dosificación, y la vía de administración para el tratamiento de la enfermedad objetivo, tal como trastorno resistente a insulina o hipoinsulinémico. Los contenedores de antagonista de IL-17 pueden ser dosis unitarias o paquetes masivos (por ejemplo, paquetes de dosis múltiples) o dosis subunitarias.

El artículo de fabricación comprende un contenedor y un rótulo o prospecto de envase sobre o asociado con el contenedor. Los contenedores adecuados incluyen, por ejemplo, frascos, viales, jeringas, etc. Los contenedores

pueden estar formados por diversos materiales tales como vidrio o plástico. Los contenedor contienen una composición que es efectiva para tratar la condición y pueden tener un puerto de acceso estéril (por ejemplo el contenedor puede ser una bolsa de solución intravenosa o un vial que tiene un tapón que puede ser perforado por una aguja de inyección hipodérmica). Al menos un agente activo de la composición es un antagonista de IL-17 de la invención. El rótulo o prospecto indica que la composición se usar para tratar la condición particular. El rótulo o prospecto también comprende instrucciones para administrar la composición de anticuerpo al paciente. También están contemplados los artículos de fabricación y kits que comprenden terapias de combinación descritos en la presente.

Los prospectos se refieren a instrucciones habitualmente incluidas en paquetes comerciales de productos terapéuticos que contienen información sobre las indicaciones, el uso, la dosis, la administración, las contraindicaciones y/o las advertencias referidas al uso de dichos productos terapéuticos

Además, el artículo de fabricación también puede comprender un segundo contenedor que comprende un buffer farmacéuticamente aceptable, tal como agua bacteriostática para inyección (BWFI), solución fisiológica con buffer fosfato, solución de Ringer y solución de dextrosa. También puede incluir otros materiales deseables desde un punto de vista comercial y del usuario, incluso otros buffer, diluyentes, filtros, agujas y jeringas.

4. Preparación de anticuerpos

Anticuerpos monoclonales

Los anticuerpos monoclonales se pueden fabricar mediante el uso del método del hibridoma descrito por primera vez por Kohler et al., Nature, 256:495 (1975), o se pueden fabricar por métodos de ADN recombinante (patente de los Estados Unidos N.° 4.816.567). En el método de hibridoma, un ratón u otro animal huésped apropiado, tal como un hámster o un mono macaco, es inmunizado como se describió con anterioridad para generar linfocitos que producen o son capaces de producir anticuerpos que se fijan específicamente a la proteína usada para la inmunización. Alternativamente, los linfocitos se pueden inmunizar in vitro. Los linfocitos luego se fusionan con células de mieloma mediante el uso de un agente de fusión adecuado, tal como polietilenglicol, para formar una célula de hibridoma (Goding, Monoclonal Antibodies: Principles and Practice, pp.59–103 (Academic Press, 1986)).

Las células de hibridoma así preparadas se siembran y se dejan crecer en un medio de cultivo adecuado que con preferencia contiene una o más sustancias que inhiben el crecimiento o la supervivencia de las células de originales no fusionadas. Por ejemplo, si las células de mioloma originales carecen de la enzima hopoxantinaguanina fosforibosiltransferasa (HGPRT o HPRT), el medio de cultivo para los hibridomas generalmente incluye hipoxantina, aminopterina y timidina (medio HAT), cuyas sustancias impiden el crecimiento de las células deficientes en HGPRT.

Las células de mieloma preferidas son las que se fusionan eficientemente, sostienen una producción estable de alto nivel de anticuerpo por parte de las células productoras de anticuerpo seleccionadas, y son sensibles a

un medio tal como el medio HAT. Entre estas líneas celulares de mieloma preferidas se encuentran las líneas de mieloma murino, tales como las derivadas de tumores de ratón MOPC-21 y MPC-11 disponibles de Salk Institute Cell Distribution Center, San Diego, Calif., EE. UU., y las células SP-2 o X63-Ag8-653 disponibles de American Type Culture Collection, Rockville, Md., EE. UU. Las líneas celulares de mieloma humano y de heteromieloma ratón-humano también han sido descritas para la producción de anticuerpos monoclonales humanos (Kozbor, J. Immunol., 133:3001 (1984); Brodeur et al, Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications, pp. 51-63 (Marcel Dekker, Inc., Nueva York, 1987)).

El medio de cultivo en el cual crecen las células de hibridoma es analizado respecto de la producción de anticuerpos monoclonales dirigidos contra el antígeno. Con preferencia, se determina la especificidad de unión de los anticuerpos monoclonales producidos por células de hibridoma mediante inmunoprecipitación o por un ensayo de fijación in vitro, tales como radioinmunoensayos (RIA) o ensayos de inmunosorción ligada a enzima (ELISA).

Después de que se han identificado las células de hibridoma que producen anticuerpos con la especificidad, afinidad, y/o actividad deseada, los clones se pueden subclonar mediante procedimientos de dilución limitante y se cultivan por métodos estándar (Goding, MonoclonalAntibodies: Principles and Practice, pp.59-103 (Academic Press, 1986)). Los medios de cultivo adecuados para este fin incluyen, por ejemplo, el medio D-MEM o RPMI-1640. Además, las células de hibridoma se pueden cultivar in vivo como tumores ascíticos

en un animal.

Los anticuerpos monoclonales secretados por los subclones se separan de manera adecuada del medio de cultivo, líquido ascítico o suero mediante procedimientos convencionales de purificación de inmunoglobulinas tales como, por ejemplo, cromatografía de proteína A-Sefarosa, cromatografía de hidroxilapatita, electroforesis en gel, diálisis o cromatografía de afinidad.

El ADN que codifica los anticuerpos monoclonales se aísla fácilmente y se secuencia mediante el uso de procedimientos convencionales (por ejemplo, mediante el uso de sondas de oligonucleóticos capaces de fijarse específicamente a los genes codificadores de las cadenas pesadas y livianas de los anticuerpos monoclonales). Las células de hibridoma sirven como fuente preferida de tal ADN. Una vez aislado, el ADN se puede ubicar en vectores de expresión, los cuales luego son transfectados a células huésped tales como células de *E. coli*, células COS simianas, células de ovario de hámster chino (CHO), o células de mieloma que de otro modo no producen proteína de inmunoglobulina, a fin de obtener la síntesis de anticuerpos monoclonales en las células huésped recombinantes. La producción recombinante de anticuerpos se describe con mayor detalle a continuación.

En otra forma de realización, los anticuerpos o fragmentos de anticuerpo se pueden aislar de bibliotecas de fagos de anticuerpo generadas mediante el uso de las técnicas descritas en McCafferty et al., Nature, 348:552-554 (1990).

Clackson et al., Nature, 352:624-628 (1991) y Marks et

al., J. Mol. Biol., 222:581-597 (1991) describen el aislamiento de anticuerpos murinos y humanos, respectivamente, mediante el uso de bibliotecas de fagos. Posteriores publicaciones describen la producción de anticuerpos humanos de alta afinidad (rango de nM) por variación de cadena (Marks et al., Bio/Technology, 10:779-783 (1992)), así como por infección combinatoria y recombinación in vivo como estrategia para construir bibliotecas de fagos muy grandes (Waterhouse et al., Nuc. Acids. Res., 21:2265-2266 (1993)). En consecuencia, estas técnicas son alternativas viables para las tradicionales técnicas de hibridoma de anticuerpo monoclonal para el aislamiento de anticuerpos monoclonales.

El ADN también se puede modificar, por ejemplo, al sustituir la secuencia codificadora de los dominios constantes de las cadenas pesadas y livianas humanas, en lugar de las secuencias homólogas murinas (patente de los Estados Unidos N.° 4.816.567; Morrison, et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81:6851 (1984)), o por unión covalente a la secuencia codificadora de la inmunoglobulina de la totalidad o parte de la secuencia codificadora de un polipéptido distinto de la inmunoglobulina.

Generalmente, dichos polipéptidos distintos de inmunoglobulina se sustituyen en los dominios constantes de un anticuerpo, o son sustituidos en los dominios variables de un sitio de combinación del antígeno de un anticuerpo a fin de crear un anticuerpo bivalente quimérico que comprende un sitio de combinación del antígeno que tiene especificidad por un antígeno y otros sitio de combinación del antígeno que tiene especificidad por un antígeno diferente.

Anticuerpos humanos y humanizados

Un anticuerpo humanizado tiene uno o más residuos de aminoácidos introducidos que provienen de una fuente que no es humana. Estos residuos de aminoácidos no humanos a menudo se refieren como residuos "importados", los cuales generalmente se toman de un dominio variable "importado". La humanización se realiza esencialmente según el método de Winter y colaboradores (Jones et al., Nature, 321:522-525 (1986); Riechmann et al., Nature, 332:323-327 (1988); Verhoeyen et al., Science, 239:1534-1536 (1988)), al sustituir las CDR o las secuencias de CDR de roedores por las correspondientes secuencias de un anticuerpo humano. En consecuencia, dichos anticuerpos "humanizados" son anticuerpos quiméricos (patente de los Estados Unidos N.° 4.816.567) en donde sustancialmente menos de un dominio variable humano intacto ha sido sustituido por la correspondiente secuencia proveniente de una especie no humana. En la práctica, los anticuerpos humanizados generalmente son anticuerpos humanos en los cuales algunos residuos de CDR y posiblemente algunos residuos FR son sustituidos por residuos provenientes de sitios análogos en anticuerpos de roedores.

La elección de dominios variables humanos, tanto livianos como pesados, utilizados para fabricar los anticuerpos humanizados, es muy importante para reducir la antigenicidad. De acuerdo con el método denominado "mejor ajuste", la secuencia del dominio variable de un anticuerpo de roedor se analiza respecto de la totalidad de la biblioteca de secuencias de dominio variable humanas

conocidas. La secuencia humana más cercana a la del roedor se acepta como el marco humano (FR) para el anticuerpo humanizado (Sims et al., J. Immunol., 151:2296 (1993); Chothia et al., J. Mol. Biol., 196:901 (1987)). Otro método utiliza un marco particular derivado de la secuencia de consenso de todos los anticuerpos humanos de un subgrupo particular de cadenas livianas o pesadas. El mismo marco se puede usar para diferentes anticuerpos humanizados (Carter et al., Proc. Natl. Acad Sci. USA, 89:4285 (1992); Presta et al., J. Immnol., 151:2623 (1993)).

También es importante humanizar los anticuerpos con retención de la elevada afinidad por el antígeno y otras propiedades biológicas favorables. Para lograr este objetivo, de acuerdo con un método preferido, se preparan los anticuerpos humanizados mediante un proceso de análisis de las secuencias progenitoras y diversos productos humanizados conceptuales que utilizan modelos tridimensionales de las secuencias progenitoras y humanizadas. Los modelos tridimensionales de las inmunoglobulinas comúnmente están disponibles y son conocidas por los expertos en la técnica. Están disponibles programas de computación que ilustran y presentan probables estructuras tridimensionales de conformación de secuencias seleccionadas candidatas de inmunoglobulinas. La inspección de estas presentaciones permite el análisis del probable papel de los residuos en el funcionamiento de la secuencia candidata de inmunoglobulina, es decir, el análisis de los residuos que influyen sobre la capacidad del candidato de inmunoglobulina para unirse a su antígeno. De este modo, se pueden seleccionar los residuos FR y combinare con las

secuencias del receptor e importadas de manera tal que se obtengan las características deseadas del anticuerpo, tales como incremento de la afinidad por el(os) antígeno(s) objetivo(s). En general, los residuos de CDR intervienen en forma directa y más sustancialmente en la influencia sobre la fijación del antígeno.

Alternativamente, ahora es posible producir animales transgénicos (por ejemplo, ratones) capaces, luego de la inmunización, de producir un repertorio completo de anticuerpos humanos en ausencia de producción endógena de inmunoglobulinas. Por ejemplo, se ha descrito que la eliminación homocigota del gen de la región de unión de la cadena pesada del anticuerpo (J.sub.H) en ratones quiméricos y mutantes de línea germinal da por resultado la completa inhibición de la producción endógena de anticuerpo. La transferencia de la disposición de genes de línea germinal de inmunoglobulina humana en dichos ratones mutantes de línea germinal da por resultado la producción de anticuerpos humanos luego de la exposición al antígeno. Ver, por ejemplo, Jakobovits et al, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:2551 (1993); Jakobovits et al., Nature, 362:255-258 (1993); Bruggermann et al., Year in Immuno., 7:33 (1993); y Duchosal et al. Nature 355:258 (1992). Los anticuerpos humanos también se pueden derivar de bibliotecas de presentación de fagos (Hoogenboom et al, J. Mol. Biol., 227:381 (1991); Marks et al, J. MoL Biol., 222:581-597 (1991); Vaughan et al. Nature Biotech 14:309 (1996)). La generación de anticuerpos humanos a partir de las bibliotecas de presentación de fagos de anticuerpo se describe a continuación.

Fragmentos de anticuerpo

Se han desarrollado diversas técnicas para la producción de fragmentos de anticuerpo. Tradicionalmente, estos fragmentos eran derivados por digestión proteolítica de anticuerpos intactos (ver, por ejemplo, Morimoto et al., Journal of Biochemical and Biophysical Methods 24:107-117 (1992) y Brennan et al., Science, 229:81 (1985)). Sin embargo, estos fragmentos ahora pueden ser producidos directamente por células huésped recombinantes. Por ejemplo, los fragmentos de anticuerpo se pueden aislar de las bibliotecas de fagos de anticuerpo descritos con anterioridad. Alternativamente, los fragmentos Fab'-SH pueden ser recuperados directamente de *E. coli* y acoplar químicamente para formar los fragmentos $F(ab')_2$ (Carter et al., Bio/Technology 10:163-167 (1992)). En otra forma de realización, tal como se describe en el ejemplo siguiente, se forma $F(ab')_2$ mediante el uso del cierre de leucina GCN4 para promover el ensamblado de la molécula $F(ab')_2$. De acuerdo con otro enfoque, los fragmentos $F(ab')_2$ pueden ser aislados directamente del cultivo de células huésped recombinantes. Otras técnicas para la producción de fragmentos de anticuerpo serán aparentes para los expertos en la técnica. En otras formas de realización, el anticuerpo de elección es un fragmento Fv monocatenario (scFv). Ver el documento WO 93/16185.

Anticuerpos multiespecíficos

Los anticuerpos multiespecíficos tienen especificidades de unión para al menos dos epitopos diferentes, en donde los epitopos usualmente provienen de distintos antígenos. Si

bien dichas moléculas normalmente sólo se fijan a dos epitopos diferentes (es decir anticuerpos biespecíficos, BsAbs), los anticuerpos con especificidades adicionales tales como anticuerpos triespecíficos están abarcados por esta expresión cuando se usan en la presente. Los métodos para fabricar estos anticuerpos biespecíficos son conocidos en la técnica. La producción tradicional de anticuerpos biespecíficos de longitud total se basa en la coexpresión de dos pares de cadenas pesadas-cadenas livianas de inmunoglobulina, en donde las dos cadenas tienen diferentes especificidades (Millstein et al., Nature, 305:537-539 (1983)). Debido a la distribución aleatoria de las cadenas pesadas y livianas de la inmunoglobulina, estos hibridomas (cuadromas) producen una mezcla potencial de 10 diferentes moléculas de anticuerpo, de las cuales sólo una tiene la correcta estructura biespecífica. La purificación de la molécula correcta, lo cual usualmente se realiza por etapas de cromatografía por afinidad, es bastante laboriosa, y los rendimientos de producto son bajos. Procedimientos similares se describen en el documento WO 93/08829, y en Traunecker et al., EMBO J., 10:3655-3659 (1991). De acuerdo con un enfoque diferente, los dominios variables del anticuerpo con las especificidades deseadas (anticuerpo-sitios de combinación del antígeno) se fusionan en las secuencias de dominio constante de la inmunoglobulina. La fusión con preferencia se realiza con un dominio constante de la cadena pesada de la inmunoglobulina, que comprende al menos parte de la bisagra, las regiones CH2, y CH3. Se prefiere tener la primera región constante de cadena pesada (CH1) que contiene el sitio necesario para la fijación de la cadena liviana,

presente en al menos una de las fusiones. Los ADN que codifican las fusiones de la cadena pesada de la inmunoglobulina y, si se desea, la cadena liviana de la inmunoglobulina, se insertan en vectores de expresión separados, y se cotransfectan en un organismo huésped adecuado. Esto provee gran flexibilidad en el ajuste de las proporciones mutuas de los tres fragmentos de polipéptido en las formas de realización cuando las proporciones desiguales de las tres cadenas de polipéptidos usadas en la construcción proveen los rendimientos óptimos. Sin embargo, es posible insertar las secuencias codificadoras de dos o de las tres cadenas de polipéptido en un vector de expresión cuando la expresión de al menos dos cadenas de polipéptidos en proporciones iguales producen altos rendimientos o cuando las proporciones no tienen particular significancia.

En una forma preferida de realización de este enfoque, los anticuerpos biespecíficos se componen de una cadena pesada híbrida de inmunoglobulina con una primera especificidad de unión en un brazo, y un par de cadena pesada-cadena liviana híbrido de inmunoglobulina (que provee una segunda especificidad de unión) en el otro brazo. Se halló que esta estructura asimétrica facilita la separación del compuesto biespecífico deseado de las combinaciones no deseadas de las cadenas de la inmunoglobulina, dado que la presencia de una cadena liviana de inmunoglobulina en sólo una mitad de la molécula biespecífica provee una forma de separación sencilla. Este enfoque se describe en el documento WO 94/04690. Para más detalles sobre la generación de anticuerpos biespecíficos ver, por ejemplo, Suresh et al., Methods in Enzymology, 121:210 (1986).

De acuerdo con otro enfoque descrito en el documento WO 96/27011, la interfaz entre un par de moléculas de anticuerpo se puede someter a ingeniería a fin de maximizar el porcentaje de heterodímeros que son recuperados del cultivo de células recombinantes. La interfaz preferida comprende al menos una parta del dominio CH3 de un dominio constante del anticuerpo. En este método, una o más cadenas laterales pequeñas de aminoácidos provenientes de la interfaz de la primera molécula de anticuerpo es reemplazada por cadenas laterales más grandes (por ejemplo tirosina o triptófano). Se crean "cavidades" compensatorias de tamaño idéntico o similar a la(s) grande(s) cadena(s) lateral(es) en la interfaz de la segunda molécula de anticuerpo al reemplazar con cadenas laterales grandes de aminoácidos las más pequeñas (por ejemplo alanina o treonina). Esto provee un mecanismo para incrementar el rendimiento del heterodímero sobre otros productos finales no deseados tales como homodímeros.

Los anticuerpos biespecíficos incluyen anticuerpos con enlaces cruzados o "heteroconjugados". Por ejemplo, uno de los anticuerpos en el heteroconjugado se puede acoplar con avidina, el otro con biotina. Se ha propuestos que dichos anticuerpos, por ejemplo, tienen por objetivo las células del sistema inmunológico respecto de las células no deseadas (patente de los Estados Unidos N.° 4.676.980), y para el tratamiento de la infección por HIV (documentos WO 91/00360, WO 92/200373). Los anticuerpos heteroconjugados se pueden fabricar mediante el uso de cualquier método conveniente para formar enlaces cruzados. Los agentes adecuados para formar enlaces cruzados son bien conocidos en la técnica, y

se describen en la patente de los Estados Unidos N.° 4.676.980, junto con una cantidad de técnicas para formar enlaces cruzados.

Las técnicas para generar anticuerpos biespecíficos a partir de fragmentos de anticuerpo también han sido descritas en la bibliografía. Por ejemplo, los anticuerpos biespecíficos se pueden preparar mediante el uso de enlaces químicos. Brennan et al., Science 229: 81 (1985) describen un procedimiento en donde los anticuerpos intactos son escindidos proteolíticamente para generar fragmentos $F(ab')_2$. Estos fragmentos se reducen en presencia del agente complejizante de ditiol arsenita de sodio a fin de estabilizar ditioles vecinales y prevenir la formación intermolecular de disulfuros. Los fragmentos Fab' generados luego son convertidos en derivados tionitrobenzoato (TNB). Uno de los derivados Fab'-TNB luego es reconvertido en Fab'-tiol por reducción con mercaptoetilamina y se mezcla con una cantidad equimolar del otro derivado Fab'-TNB para formar el anticuerpo biespecífico. Los anticuerpos biespecíficos producidos se pueden usar como agentes para la inmovilización selectiva de las enzimas.

Los fragmentos Fab'-SH también se pueden recuperar directamente de *E. coli*, y se pueden acoplar químicamente para formar anticuerpos biespecíficos. Shalaby et al., J. Exp. Med., 175: 217-225 (1992) describe la producción de una molécula totalmente humanizada de anticuerpo biespecífico $F(ab')_2$. Cada fragmento Fab' fue secretado en forma separada de *E. coli* y sometido a acoplamiento químico dirigido in vitro para formar el anticuerpo biespecífico.

También se han descrito diversas técnicas para preparar

y aislar fragmentos de anticuerpo biespecífico directamente de cultivos de células recombinantes. Por ejemplo, se han producido anticuerpos biespecíficos mediante el uso de cierres de leucina. Kostelny et al., J. Immunol., 148(5):1547-1553 (1992). Los péptidos del cierre de leucina de las proteínas Fos y Jun se ligaron a las porciones Fab' de dos anticuerpos diferentes, por fusión génica. Los homodímeros de anticuerpo se redujeron a la región bisagra para formar monómeros y luego se reoxidaron para formar los heterodímeros del anticuerpo. Este método también se puede utilizar para la producción de homodímeros de anticuerpo. La tecnología de "diacuerpo" descrita por Hollinger et al., Proc. Nati. Acad. Sci. USA, 90:6444-6448 (1993) provee un mecanismo alternativo para fabricar fragmentos de anticuerpo. Los fragmentos comprenden un dominio variable de cadena pesada (VH) conectado con un dominio variable de cadena liviana (VL) mediante un ligador que es demasiado corto para permitir el apareamiento entre los dos dominios de la misma cadena. En consecuencia, los dominios VH y VL de un fragmento están forzados a aparearse con los dominios VL y VH complementarios de otro fragmento, por lo que se forman dos sitios fijadores de antígeno. También se ha informado otra estrategia para preparar fragmentos de anticuerpo biespecífico mediante el uso de dímeros monocatenarios Fv (sFv). Ver Gruber et al, J. Immunol. 152:5368 (1994).

Los anticuerpos con más de dos valencias están contemplados. Por ejemplo, se pueden preparar anticuerpos triespecíficos. Tuft et al. J. Immunol. 147: 60 (1991).

Ingeniería de la función efectora

Puede ser deseable modificar el anticuerpo de la invención con respecto a la función efectora, a fin de mejorar la efectividad del anticuerpo. Por ejemplo, se pueden introducir residuos de cisteína en la región Fc, lo cual permite la formación de enlaces disulfuro intercatenarios en esta región. El anticuerpo homodimérico así generado puede tener mejor capacidad de internalización y/o incremento de la eliminación de células mediada por complemento y citotoxicidad celular dependiente de anticuerpo (ADCC). Ver Caron et al., J. Exp Med. 176:1191-1195 (1992) y Shopes, B. J. Immunol. 148:2918-2922 (1992). Los anticuerpos homodiméricos con incremento de la actividad antitumoral también se pueden preparar usando ligadores cruzados heterobifuncionales tal como se describe en Wolff et al. Cancer Research 53:2560-2565 (1993). Alternativamente, se puede obtener un anticuerpo por ingeniería que tiene regiones Fc duales y así tiene incremento de la capacidad de lisis por complemento y ADCC. Ver Stevenson et al Anti-Cancer Drug Design 3:219-230 (1989).

Fusiones de epitopo de salvataje fijador del receptor de anticuerpo.

En ciertas formas de realización de la invención, puede ser deseable usar un fragmento de anticuerpo, en lugar de un anticuerpo intacto. En este caso, puede ser deseable modificar el fragmento de anticuerpo a fin de incrementar su vida media sérica. Esto se puede lograr, por ejemplo, mediante la incorporación de un epitopo de salvataje de fijación del receptor en el fragmento de anticuerpo (por

ejemplo por mutación de la región apropiada en el fragmento de anticuerpo o mediante la incorporación del epitopo en un rótulo peptídico que luego se fusiona al fragmento de anticuerpo en cualquiera de los extremos o en la parte media, por ejemplo, pos ADN o síntesis del péptido).

El epitopo de salvataje de fijación del receptor con preferencia constituye una región en donde uno cualquiera o más residuos de aminoácidos provenientes de uno o dos giros de un dominio Fc es transferido a una posición análoga del fragmento de anticuerpo. Con aún mayor preferencia, se transfieren tres o más residuos de uno o dos giros del dominio Fc. Con aún mayor preferencia, el epitopo se toma del dominio CH2 de la región Fc (por ejemplo, de una IgG) y es transferido a la región CH1, CH3, o V.sub.H, o en más de una de dichas regiones del anticuerpo. Alternativamente, el epitopo se toma del dominio CH2 de la región Fc y se transfiere a la región CL o la región VL, o ambas, del fragmento de anticuerpo.

Otras modificaciones covalentes de los anticuerpos

Las modificaciones covalentes de los anticuerpos se incluyen en el alcance de la presente invención. Pueden ser preparados por síntesis química o por escisión enzimática o química del anticuerpo, si corresponde. Otros tipos de modificaciones covalentes del anticuerpo se introducen en la molécula al hacer reaccionar los residuos de aminoácidos objetivo del anticuerpo con un agente derivador orgánico capaz de reaccionar con cadenas laterales seleccionadas o los residuos N- o C-terminales. Los ejemplos de modificaciones covalentes se describen en la patente de los

Estados Unidos N.° 5.534.615, incorporada específicamente en la presente por referencia. Un tipo preferido de modificación covalente del anticuerpo comprende la unión del anticuerpo a uno de diversos polímeros no proteicos, por ejemplo, polietilenglicol, polipropilenglicol, o polioxialquilenos, de la manera establecida en las patentes de los Estados Unidos N.° 4.640.835; 4.496.689; 4.301.144; 4.670.417; 4.791.192 o 4.179.337.

Generación de anticuerpos a partir de bibliotecas de fagos para la síntesis de anticuerpos

En una forma preferida de realización, la invención provee un método para generar y seleccionar nuevos anticuerpos mediante el uso de un enfoque singular de presentación por fago. El enfoque incluye la generación de bibliotecas de fagos para la síntesis de anticuerpos sobre la base de una plantilla de marco único, el diseño de diversidades suficientes dentro de dominios variables, la presentación de polipéptidos que tienen dominios variables diversificados, la selección de candidatos de anticuerpos con elevada afinidad dirigida al antígeno, y el aislamiento de los anticuerpos seleccionados.

Los detalles de los métodos de presentación de fagos se pueden hallar, por ejemplo, en el documento WO 03/102157 publicado el 11 de diciembre de 2003, cuya descripción completa se incorpora expresamente en la presente por referencia.

En un aspecto, las bibliotecas de anticuerpo usadas en la invención se pueden generar por mutación de las posiciones accesibles al solvente y/o altamente diversas en al menos una CDR de un dominio variable del anticuerpo.

Algunas o todas las CDR se pueden mutar mediante el uso de los métodos provistos en la presente. En algunas en formas de realización, puede ser preferible generar diversas bibliotecas de anticuerpo por mutación de las posiciones en CDRH1, CDRH2 y CDRH3 a fin de formar una única biblioteca o por mutación de las posiciones en CDRL3 y CDRH3 para formar una única biblioteca o por mutación de las posiciones en CDRL3 y CDRH1, CDRH2 y CDRH3 para formar una única biblioteca.

Se puede generar una biblioteca de dominios variables de anticuerpo, por ejemplo, que tenga mutaciones en posiciones accesibles al solvente y/o altamente diversas de CDRH1, CDRH2 y CDRH3. Se puede generar otra biblioteca que tenga mutaciones en CDRL1, CDRL2 y CDRL3. Estas bibliotecas también se pueden usar en conjunción entre sí para generar ligadores con afinidades deseadas. Por ejemplo, después de una o más ruedas de selección de bibliotecas de cadenas pesadas para unión con un antígeno objetivo, se puede reemplazar una biblioteca de cadenas livianas dentro de la población de ligadores de cadenas pesadas para otras rondas de selección, a fin de incrementar la afinidad de los ligadores.

Con preferencia, se crea una biblioteca por sustitución de los aminoácidos originales por aminoácidos variantes en la secuencia de la región CDRH3 de la región variable de la cadena pesada. La biblioteca obtenida puede contener una pluralidad de secuencias de anticuerpo, en donde la diversidad de secuencia está principalmente en la secuencia de la región CDRH3 de la región de la cadena pesada.

En un aspecto, se crea la biblioteca en el contexto de

la secuencia del anticuerpo humanizado 4D5, o la secuencia de los aminoácidos del marco de la secuencia del anticuerpo humanizado 4D5. Con preferencia, se crea la biblioteca por sustitución de al menos los residuos 95-100a de la cadena pesada por los aminoácidos codificados por el conjunto del codón *DVK*, en donde el conjunto del codón *DVK* se usa para codificar un conjunto de aminoácidos variantes para cada una de estas posiciones. Un ejemplo de un conjunto de oligonucleótidos de utilidad para crear estas sustituciones comprende la secuencia $(DVK)_7$. En algunas formas de realización, se crea una biblioteca por sustitución de los residuos 95-100a por los aminoácidos codificados por los conjuntos de codones *DVK y NNK*. Un ejemplo de un conjunto de oligonucleótidos de utilidad para crear estas sustituciones comprende la secuencia $(DVK)_6$ *(NNK)*. En otra forma de realización, se crea una biblioteca por sustitución de al menos los residuos 95-100a por los aminoácidos codificados por los conjuntos de codones *DVK* y *NNK*. Un ejemplo de un conjunto de oligonucleótidos de utilidad para crear estas sustituciones comprende la secuencia $(DVK)_5$ *(NNK)*. Otro ejemplo de un conjunto de oligonucleótidos de utilidad para crear estas sustituciones comprende la secuencia $(NNK)_6$. Otros ejemplos de secuencias de oligonucleótidos adecuados pueden ser determinados por un experto en la técnica de acuerdo con los criterios descritos en la presente.

En otra forma de realización, se utilizan diferentes diseños de CDRH3 para aislar los ligadores de gran afinidad y para aislar los ligadores para diversos epitopos. El rango de longitudes de CDRH3 generadas en esta biblioteca es de 11 a 13 aminoácidos, si bien también se pueden generar

longitudes diferentes de esta. La diversidad de H3 se puede expandir mediante el uso de los conjuntos de codones *NNK, DVK y NVK*, así como una diversidad más limitada en el N y/o C-terminal.

También se puede generar diversidad en CDRH1 y CDRH2. Los diseños de las diversidades CDR-H1 y H2 siguen la estrategia de dirección hacia la semejanza con el repertorio de anticuerpos naturales tal como se describe con las modificaciones que centran la atención en la diversidad que coincide más estrechamente con la diversidad natural que el diseño previo.

Para la diversidad en CDRH3, se pueden construir múltiples bibliotecas por separado con diferentes longitudes de H3 y luego se combinan para seleccionar ligadores para los antígenos objetivos. Las múltiples bibliotecas se pueden juntar y clasificar mediante la selección de soportes sólidos y los métodos de clasificación de soluciones tal como se describió previamente y en la presente a continuación. En emplear múltiples estrategias de clasificación. Por ejemplo, una variación incluye la clasificación en un objetivo ligado a un sólido, seguido de clasificación según un rótulo que puede estar presente en el polipéptido de fusión (por ejemplo, rótulo anti-gD) y seguido de otra clasificación sobre un rótulo ligado a un sólido. Alternativamente, las bibliotecas se pueden clasificar primero sobre un objetivo ligado a una superficie sólida, luego se clasifican los ligadores eluidos mediante fijación de la fase en solución con concentraciones decrecientes del antígeno objetivo. La utilización de combinaciones de los diferentes métodos de clasificación

provee la minimización de la selección de sólo las secuencias con expresión elevada y provee la selección de numerosos clones diferentes con afinidad elevada.

Los ligadores con alta afinidad por el antígeno objetivo se pueden aislar de las bibliotecas. La limitación de la diversidad en la región H1/H2 disminuye la degeneración en aproximadamente 10^4 a 10^5 veces y al permitir mayor diversidad de H3 provee ligadores con mayor afinidad. La utilización de bibliotecas con diferentes tipos de diversidad en CDRH3 (por ejemplo, al utilizar DVK o NVT) provee el aislamiento de ligadores que se pueden unir a diferentes epitopos de un antígeno objetivo.

De los ligadores aislados de las bibliotecas reunidas tal como se describió con anterioridad, se descubrió que la afinidad se puede mejorar aún más al proveer limitada diversidad en la cadena liviana. La diversidad de la cadena liviana se genera en esta forma de realización tal como sigue en CDRL1: la posición del aminoácido 28 es codificada por RDT; la posición del aminoácido 29 es codificada por RKT; la posición del aminoácido 30 es codificada por RVW; la posición del aminoácido 31 es codificada por ANW; la posición del aminoácido 32 es codificada por THT; opcionalmente, la posición del aminoácido 33 es codificada por CTG ; en CDRL2: la posición del aminoácido 50 es codificada por KBG; la posición del aminoácido 53 es codificada por AVC; y opcionalmente, la posición del aminoácido 55 es codificada por GMA ; en CDRL3: la posición del aminoácido 91 es codificada por TMT o SRT o ambos; la posición del aminoácido 92 es codificada por DMC; la posición del aminoácido 93 es codificada por RVT; la

posición del aminoácido 94 es codificada por NHT; y la posición del aminoácido 96 es codificada por TWT o YKG o ambos.

En otra forma de realización, se genera una biblioteca o bibliotecas con diversidad en las regiones CDRH1, CDRH2 y CDRH3. En esta forma de realización, se genera diversidad en CDRH3 mediante el uso de diversas longitudes de las regiones H3 y mediante el uso principalmente de los conjuntos de codones *XYZ y NNK o NNS*. Las bibliotecas se pueden formar mediante el uso de oligonucleótidos individuales y los conjuntos o los oligonucleótidos se pueden reunir para formar un subconjunto de bibliotecas. Las bibliotecas de esta forma de realización se pueden clasificar respecto de un objetivo ligado a un sólido. Los clones aislados de múltiples clasificaciones se pueden analizar respecto de la especificidad y la afinidad mediante el uso de ensayos por ELISA. Para la especificidad se pueden analizar los clones respecto de los antígenos objetivo deseados así como otros antígenos no objetivo. Estos ligadores del antígeno objetivo luego se pueden analizar respecto de la afinidad en un ensayo por ELISA de competencia de fijación en solución o ensayo de competencia en mancha. Los ligadores con alta afinidad se pueden aislar de la biblioteca utilizando conjuntos de codones *XYZ* preparados tal como se describió con anterioridad. Estos ligadores se pueden producir fácilmente como anticuerpos o fragmentos de fijación del antígeno con alto rendimiento en cultivos celulares.

En algunas formas de realización, puede ser deseable generar bibliotecas con mayor diversidad de longitudes de la región CDRH3. Por ejemplo, puede ser deseable generar

bibliotecas con regiones CDRH3 que varían desde aproximadamente 7 hasta 19 aminoácidos.

Los ligadores con alta afinidad aislados de las bibliotecas de estas formas de realización se producen fácilmente en cultivos bacterianos y de células eucariontes, con altos rendimientos. Los vectores se pueden diseñar para extraer fácilmente las secuencias tales como los rótulos gD, la secuencia del componente de la proteína de cubierta viral, y/o agregar secuencias en la región constante para proveer la producción de anticuerpos de longitud total o fragmentos de fijación del antígeno con alto rendimiento.

Una biblioteca con mutaciones en CDRH3 se puede combinar con una biblioteca que contiene versiones variantes de otros CDR, por ejemplo CDRL1, CDRL2, CDRL3, CDRH1 y/o CDRH2. En consecuencia, por ejemplo, en una forma de realización, una biblioteca CDRH3 se combina con una biblioteca CDRL3 creada en el contexto de la secuencia de anticuerpo 4D5 humanizado con aminoácidos variantes en las posiciones 28, 29, 30, 31 y/o 32 mediante el uso de conjuntos de codones predeterminados. En otra forma de realización, una biblioteca con mutaciones de CDRH3 se puede combinar con una biblioteca que comprende variantes de los dominios variables de las cadenas pesadas CDRH1 y/o CDRH2. En una forma de realización, la biblioteca de CDRH1 es creada con la secuencia del anticuerpo 4D5 humanizado con variantes de aminoácidos en las posiciones 28, 30, 31, 32 y 33. Se puede crear una biblioteca de CDRH2 con la secuencia de anticuerpo humanizado 4D5 con variantes de aminoácidos en las posiciones 50, 52, 53, 54, 56 y 58 mediante el uso de conjuntos de codones predeterminados.

La descripción escrita anterior se considera suficiente para permitir a un experto en la técnica poner en práctica la invención. Los siguientes ejemplos se ofrecen sólo con fines ilustrativos, y de ninguna manera pretenden limitar el alcance de la presente invención. De hecho, diversas modificaciones de la invención además de las mostradas y descritas en la presente serán obvias para los expertos en la técnica a partir de la descripción precedente y caen dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas.

Los reactivos disponibles en el comercio a que se hace referencia en los Ejemplos se usaron de acuerdo con las instrucciones del fabricante, a menos que se indique otra cosa. La fuente de las células identificadas en los siguientes Ejemplos, y en toda la memoria descriptiva, por los números de acceso ATCC es la American Type Culture Collection, Manassas, VA. A menos que se destaque de otro modo, la presente invención utiliza procedimientos estándar de tecnología de ADN recombinante, tales como los descritos con anterioridad en la presente y en los siguientes textos: Sambrook *et al., supra*; Ausubel *et al.,* Current Protocols in Molecular Biology (Green Publishing Associates y Wiley Interscience, N.Y., 1989); Innis *et al.,* PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications (Academic Press, Inc.: N.Y., 1990); Harlow *et al.,* Antibodies: A Laboratory Manual (Cold Spring Harbor Press: Cold Spring Harbor, 1988); Gait, Oligonucleotide Synthesis (IRL Press: Oxford, 1984); Freshney, Animal Cell Culture, 1987; Coligan *et al.,* Current Protocols in Immunology, 1991.

Otros detalles de la invención se proveen en los siguientes ejemplos no limitantes.

Todas las referencias citadas en toda la descripción se incorporan así expresamente en la presente por referencia en su totalidad.

Ejemplo 1

Papel de los miembros de la familia IL-17 en diabetes y resistencia a insulina.

Estudio en ratones IL-17Rc KO y modelo de dieta rico en grasas

Ratones machos de 8 semanas de edad IL-17Rc (UNQ6118.KO.lex) Knockout y camadas de ratones semejantes de tipo silvestre (WT) como control fueron alimentados con dieta de alimento común o 60% de dieta rica en grasas (HFD).

GRUPO 1: ratones IL-17Rc Knockout (KO) con dieta rica en grasas (5 animales)

GRUPO 2: ratones IL-17Rc, WT de camada similar como control con dieta rica en grasas (5 animales)

GRUPO 3: ratones IL-17Rc KO con dieta común (3 animales)

GRUPO 4: ratones IL-17Rc WT de camada similar como control con dieta común (3 animales).

El diseño experimental se muestra en la Figura 7.

Los ratones se sometieron a Prueba de tolerancia a glucosa (GTT) para acceder a su estado de Resistencia a insulina.

Se efectuó GTT usando el siguiente método.

Mediciones de glucosa sanguínea e insulina: Se obtuvieron muestras de sangre por sangrado de las venas safenas, y se analizó respecto de la concentración de glucosa inmediatamente mediante el uso de un glucómetro

(OneTouch Glucometer fabricado por Lifescan, EE. UU.). La insulina sérica se midió mediante el método de ELISA.

Prueba de tolerancia a glucosa (GTT): después de ayuno durante la noche (14 h), los animales fueron estudiados por la mañana, a las 9:00 h. Se midió la glucosa sanguínea en muestras obtenidas de sangrado de la vena safena antes de la inyección intraperitoneal de glucosa a 1,5 mg/gramo de peso corporal de cada animal, así como a los 30, 60, 120 y 150 minutos después de la administración de glucosa. Los valores se calcularon como mg/dL de glucosa.

Se realizó GTT para la línea de base (antes de ser sometidos a dieta rica en grasas) así como en la semana 8, la semana 10, la semana 12 y la semana 14 después del grupo con dieta rica en grasas. Los ratones alimentados con dieta de alimento común se usaron como grupos control. El resto de las condiciones eran similares en los ratones Knockout y los ratones de control de camada similar de tipo silvestre (WT).

Además de GTT, cada semana se monitorearon el peso corporal total del animal, así como los niveles séricos en ayunas de insulina y glucosa.

Los resultados se muestran en las Figuras 8–11.

Si bien los ratones control de camada similar IL-17Rc WT mostraron significativo aumento de peso y desarrollaron un fenotipo de resistencia a insulina, los ratones IL-17Rc Knockout eran significativamente más magros y depuraban la glucosa mucho mejor que los controles de camada similar WT. Incluso después de alimentarse con dieta rica en grasas durante más de 12 semanas, los ratones knockout no aumentaron de peso. Ambos grupos mostraron un nivel similar de concentraciones circulantes de insulina en ayunas. No se

observó diferencia significativa entre los ratones KO y WT en el control de grupos alimentados con dieta.

Además del experimento descrito con anterioridad mediante el uso de ratones IL-17 Rc KO, se utilizaron dos líneas de estudio separadas para estudiar el papel de las citoquinas proinflamatorias IL-17A y IL-17F en diabetes y resistencia a insulina.

Ejemplo 2

Efecto de mAb anti-IL-17 y Anti-IL-17F sobre ratones modelo resistentes a insulina con dieta rica en grasas

El objeto de este estudio consistió en investigar la eficacia de los mAb Anti-Il-17 y Anti-IL-17F en el modelo de resistencia a insulina preventiva y establecida y comparar con el efecto terapéutico de muTNFRII-Fc.

Diseño experimental y grupos:

Grupo.1: Ragweed 6 mg/kg en 100 ul de solución fisiológica ip 3 veces/semana durante 10 semanas (n=10).

Grupo.2: MuTNFRII-IgG2a 4 mg/kg en 100 µl de solución fisiológica ip 3 veces/semana durante 10 semanas (n=10).

Grupo.3: MuAnti-IL-17 6 mg/kg en 100 ul de solución fisiológica ip 3 veces/semana durante 10 semanas (n=10).

Grupo.4: MuAnti-IL-17+MuAnti-IL-17F mAb 6mg/kg en 100 µl de solución fisiológica ip 3 veces/semana durante 10 semanas (n=10).

Grupo.5: MuTNFRII-Fc 4.mg/kg=MuAnti-IL-17 6 mg/kg+MuAnti-IL17FmAb 6 mg/kg en 18 semanas y 24 semanas (10 animales).

Todos los grupos fueron sometidos a alimentación con dieta rica en grasas. A fin de evaluar el estado de

resistencia a insulina de los ratones se efectuó prueba de tolerancia a glucosa (GTT) cada 2 semanas después de HFD y dosificación del anticuerpo.

El protocolo se ilustra en la Figura 12. El efecto de los MAb anti-IL-17A y anti-IL-17F sobre la tolerancia a glucosa después de 9 semanas de dosis se muestra en la Figura 13.

Ejemplo 3

Efecto de la sobreexpresión de IL-17 sobre el estado de resistencia a insulina evaluada mediante GTT

El estudio se basó en la inyección hidrodinámica por la vena de la cola (HTV) del ADN de plásmido para la expresión de las proteínas nativas murinas IL-17A y IL-17F en ratones alimentados con dieta normal y rica en grasas para expresar el nivel elevado de las citoquinas proinflamatorias murinas IL-17A y IL-17F en ratones a fin de estudiar su papel en la resistencia a insulina.

Grupo 1: sin plásmido

Grupo 2: vector pRK solo

Grupo 3: pRK-IL-17A

Grupo 4: pRK-IL-17F

Dentro de cada grupo, 5 subgrupos de ratones fueron inyectados para extraer sangre en diversos puntos temporales (0 h, 2 h, 6 h, 24 h, y 72 h después de la ingestión de ADN) a fin de medir los niveles de citoquina circulante en suero. Una vez establecido esto, se sobreexpresaron IL-17A y IL-17F en los ratones alimentados con dieta rica en grasas (HFD) a fin de acceder al cambio del estado de resistencia a insulina.

Experimentos de inyección de la vena de la cola:

1) La construcción de ADN (vector pRK o pRK-IL-17A y pRK-IL-17F) se diluyó en solución fisiológica (con preferencia de Ringer) a una concentración que dio una dosis final de 50 μg/ratón /inyección.

2) Cada ratón fue inyectado por vía intravenosa en la vena de la cola con aproximadamente 1,6 ml de la solución que con tiene ADN en solución fisiológica o solución de Ringer.

3) Las dosis se administraron como una inyección de bolo intravenosa (vena de la cola) durante un período de 4-5 segundos (8 segundos como máximo) para el máximo de captación de ADN.

Los resultados se muestran en la Figura 14. A) Los ratones c57BL/6 de ocho semanas de edad fueron inyectados con 50 ug de ADN de plásmido (pRK-IL-17A) o vector pRK solo. 48 h más tarde se recolectó suero de ambos grupos y se midió el nivel de IL-17 en el suero por ELISA. B) Tres grupos de ratones se dejaron en ayunas durante la noche y se sometieron a ip GTT y los resultados se graficaron en función del tiempo después de la inyección de glucosa. (*p>0,05).

Si bien la presente invención ha sido descrita con referencia a lo que se considera son las formas específicas de realización, se debe entender que la invención no se limita a dichas formas de realización. Por el contrario, la invención pretende cubrir diversas modificaciones y equivalentes incluidos en el espíritu y el alcance de las reivindicaciones adjuntas.

TRADUCCION OFICIAL No. 2012-02-15-106
DE UN DOCUMENTO ESCRITO EN INGLES

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 T. Lawrence
3. actuando como Funcionario que Certifica
4. lleva el sello/estampilla de la Oficina de Patentes y Marcas de los EE.UU.

Certificado

5. en Washington, D.C.
6. el 1 de febrero de 2012
7. por el Funcionario Asistente de Autenticaciones, Departamento de Estado de los Estados Unidos
8. No. 12015938-10
9. Sello/Estampilla
   Departamento de Estado
   Estados Unidos de América
10. Firma: (ilegible)
    Patrick O. Hatchett

TRADUCTORA OFICIAL
RES 2177/89 MINJUSTICIA
[illegible] LICODAR DE TAMAYO

{JLLCCO: 337127.DOC v.1}

REPÚBLICA DE COLOMBIA
MINISTERIO DE RELACIONES EXTERIORES
LEGALIZACION

Libertad y Orden

País: ***REPUBLICA DE COLOMBIA***
(Country: - Pays:)

El presente documento público
(This public document - Le présent acte public)

Ha sido firmado por: ***ESCOBAR DE TAMAYO ANITA CECILE***
(Has been signed by: - A été signé par:)

Actuando en calidad de: ***TRADUCTOR OFICIAL***
(Acting in the capacity of: - Agissant en qualité de:)

Lleva el sello/estampilla de: ***TRADUCTOR E INTERPRETE OFICIAL***
(Bears the seal/stamp of: - Est revétu du sceau de / timbre de:)

Certificado
(Certified - Attesté)

En: ***BOGOTA D.C***
(At: - A:)

El: ***2/16/2012 12:48:31 p.m.***
(On: - Le:)

Por: ***APOSTILLA Y LEGALIZACIÓN***
(By: The Ministry of Foreign Affairs of Colombia - Par: Ministère des Affaires Étrangères de la Colombie)

No: ***LMCQ124831778***
(Under Number: - Sous le numéro:)

Nombre del Titular: ***12015938-10***
(Name of the holder of document: - Nom du titulaire:)

Tipo de documento: ***TRADUCCION APOSTILLA***
(Type of document: - Type du document:)

Número de hojas: ***4***
(Number of pages: - Nombre de pages:)

01304100119309701357

Firmado Digitalmente por: (Digitally Signed by:)
Ministerio de Relaciones Exteriores de Colombia
AMPARO DE LA CRUZ TAMAYO RODRIGUEZ
Reason: DOCUMENT AUTHENTICITY
BOGOTA - COLOMBIA

La autenticidad de este documento puede ser verificada en el Registro Electrónico que se encuentra en la siguiente página
The authenticity of this document may be verified by accessing the e-Register on the following web site:
L'authenticité de cette document peut être vérifiée en accédant l'e-Registre sur le site web suivant:

www.cancilleria.gov.co/legalizaciones

LOS ESTADOS UNIDOS DE AMERICA
A TODOS AQUELLOS QUE VIEREN ESTOS PRESENTES:
DEPARTAMENTO DE COMERCIO DE LOS ESTADOS UNIDOS
Oficina de Patentes y Marcas de los Estados Unidos

15 de diciembre de 2011

POR EL PRESENTE CERTIFICO QUE ADJUNTO AL PRESENTE SE ENCUENTRA UNA COPIA FIEL DE LOS REGISTROS DE ESTA OFICINA DE UN DOCUMENTO REGISTRADO EL 12 DE SEPTIEMBRE DE 2011.

Oficina de Patentes y Marcas de los
Estados Unidos
Departamento de Comercio

Por Autoridad del
Subsecretario de Comercio para
Propiedad Intelectual
y Director de la Oficina de Patentes y Marcas de los Estados Unidos

(firma: ilegible)
T. LAWRENCE
Funcionario que Certifica

TRASPASO DE PATENTE	
Versión Electrónica v1.1 Versión Hoja Estilo v1.1	
TIPO DE PRESENTACION	NUEVO TRASPASO
NATURALEZA DEL TRASPASO	TRASPASO

DATOS DE LA PARTE QUE TRASPASA	
Nombre	Fecha de Ejecución
Ganesh A Kolumam	09/07/2011
Yan Hun	08/29/2011
Wenjun Ouyang	08/26/2011

DATOS DE LA PARTE QUE RECIBE	
Nombre:	Genentech, Inc.
Dirección:	1 DNA Way
Dirección Interna:	MS49
Ciudad:	San Francisco
Estado/País	CALIFORNIA
Código Postal	94080
Total NUMEROS DE PROPIEDAD: 3	
Tipo de Propiedad	Número
Número PCT:	US1029280
Número Solicitud:	12749876
Número Solicitud:	61165677

DATOS DE CORRESPONDENCIA	
Número Fax:	(650)952-9881
Teléfono:	6502251000
Email:	trenshaw@gene.com
La correspondencia se enviará vía US Mail cuando el intento por fax no sea exitoso.	

Nombre Corresponsal:	Genentech, Inc.
Línea Dirección 1:	1 DNA Way
Línea Dirección 2:	**MS49**
Línea Dirección 4:	South San Francisco, CALIFONRIA 94080

NUMERO EXPEDIENTE:	P4274R1 - TRASPASO I
NOMBRE DEL PRESENTADOR:	Bonny G. Yeung
Total Anexos: 14	
fuente=P4274R1_suscrito_traspaso_1#página1.tif fuente=P4274R1_suscrito_traspaso_1#página2.tif fuente=P4274R1_suscrito_traspaso_1#página3.tif fuente=P4274R1_suscrito_traspaso_1#página4.tif fuente=P4274R1_suscrito_traspaso_1#página5.tif fuente=P4274R1_suscrito_traspaso_1#página6.tif	

Expediente No. P4274R1

TRASPASO

POR CUANTO,

Ganesh A. Kolumam, ciudadano de India, con dirección postal 1 DNA Way, South San Francisco, CA 94080, y

Yan Hu, ciudadano de los EE.UU., con dirección postal 1 DNA Way, South San Francisco, CA 94080, y

Wenjun Ouyang, ciudadano de los EE.UU., con dirección postal 1 DNA Way, South San Francisco, CA 94080

(en adelante "CEDENTES"), hemos inventado una invención nueva y útil en

TRATAMIENTO DE TRASTORNOS RESISTENTES A INSULINA

para la cual se ha presentado una solicitud para Patente de Invención No. Serial PCT/US2010/029280 (Expediente No. P4274R1 WO) el 30 de marzo de 2010, y una solicitud para Patente de Invención No. Serial 12/749,876 (Expediente No. P4274R1 US) el 30 de marzo de 2010), y una solicitud para Patente de Invención No. Serial 61/165,677 (Expediente No. PR4274) el 1 de abril de 2009, y

POR CUANTO, GENENTECH, INC., una sociedad constituida y existente bajo y en virtud de las leyes del Estado de Delaware, con domicilio en 1 DNA Way, South San Francisco, California 94080-4990, desea adquirir un interés en y de dicha invención, y en y de las Patentes de Invención para ser obtenido por lo tanto;

AHORA, POR LO TANTO, sépase por todos a quienes concierna;

Que por una contraprestación buena y valiosa el recibo de lo cual se reconoce por el presente, dicho CEDENTE ha y por el presente vende, cede, transfiere y traspasa a GENENTECH, INC., sus sucesores y cesionarios, el derecho, título e interés completo y exclusivo incluyendo todos los derechos bajo la Convención de París para la Protección de Propiedad Industrial, en y de dicha invención, y en y de cualquiera y todas las Patentes de Invención para ser otorgadas y expedidas por lo tanto o cualquier continuación, división, renovación, o sustituto de la misma, y en cuanto a Patentes de Invención cualquier reexpedición o reexamen de la misma, no únicamente para, de, y en los Estados Unidos de América, sus territorios y posesiones, sino para, y en todos los demás países; y ha sido y por el presente se autoriza y solicita que las agencias

gubernamentales apropiadas expidan dichas Patentes de Invención a GENENTECH, INC., de conformidad con este Traspaso.

Dichos CEDENTES convienen y acuerdan cooperar con GENENTECH, INC., para permitir que GENENTECH, INC. disfrute hasta el límite completo el derecho, título e interés por el presente traspasado en los Estados Unidos y países extranjeros. Dicha cooperación por dichos CEDENTES incluye la producción oportuna de los datos y documentos pertinentes, dando testimonio, ejecución de recursos, juramentos, especificaciones, declaraciones u otros documentos, y otra asistencia todo hasta donde se considere necesario o deseable por parte de GENENTECH, INC. (a) para perfeccionar el derecho, título e interés por el presente traspasado; (b) para procesar cualquiera de dichas solicitudes; (c) para presentar y procesar solicitudes para reexpedición de cualquiera de dichas patentes; (d) para interferencia u otro procedimiento de prioridad que comprenda a dicha invención; y (e) para procesos legales que comprendan a dicha invención y cualquier solicitud por lo tanto y cualquier patente otorgada sobre ella, incluyendo sin limitación procedimientos de oposición, procedimientos de cancelación, concursos de prioridad, procedimientos de uso público, acciones de infracción y acciones judiciales; siempre y cuando, sin embargo, que el gasto incurrido por dichos CEDENTES al proporcionar dicha cooperación sea pagado por GENENTECH, INC.

Los términos y acuerdos de este traspaso entrarán en vigencia para beneficio de GENENTECH, INC., sus sucesores, cesionarios y otros representantes legales, y será obligatorio para dichos CEDENTES, sus respectivos herederos, representantes legales, y cesionarios.

Dichos CEDENTES por el presente garantizan y afirman que no han celebrado y no celebrarán ningún traspaso, contrato, o entendimiento que entre en conflicto con ello.

EN TESTIMONIO DE LO CUAL, firmamos como sigue.

South San Francisco	(firma: ilegible)
Fechado: 7 de septiembre de 2011	Ganesh A. Kolumam
Saint Louis, MO	(firma: ilegible)
Fechado: 08/29/2011	Yan Hu
South San Francisco	(firma: ilegible)
Fechado: 08/26/2011	Wenjun Ouyang[1]

REGISTRADO: 09/12/2011

PATENTE

REEL: 026885 FRAME: 0950

Traducido según mi mejor saber y entender, este día 15 de febrero de 2012, en la ciudad de Bogotá, D.C., por Anita Escobar de Tamayo, Traductora Oficial, Res. 2177 de 1989, Ministerio de Justicia, República de Colombia.

TRADUCTORA OFICIAL
RES. 2177/89 MINJUSTICIA
ANITA ESCOBAR DE TAMAYO

APOSTILLE

(Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

1. Country: *United States of America*

This public document

2. has been signed by T. Lawrence

3. acting in the capacity of Certifying Officer

4. bears the seal/stamp of U.S. Patent and Trademark Office

Certified

5. at Washington, D.C.

6. the first of February, 2012

7. by *Assistant Authentication Officer, United States Department of State*

8. No. 120159[illegible]

9. Seal/Stamp

10. Signature:

Patrick O. Hatchett

A 7330041

THE UNITED STATES OF AMERICA

TO ALL TO WHOM THESE PRESENTS SHALL COME:

UNITED STATES DEPARTMENT OF COMMERCE
United States Patent and Trademark Office

December 15, 2011

THIS IS TO CERTIFY THAT ANNEXED IS A TRUE COPY FROM THE RECORDS OF THIS OFFICE OF A DOCUMENT RECORDED ON SEPTEMBER 12, 2011.

By Authority of the
Under Secretary of Commerce for Intellectual Property
and Director of the United States Patent and Trademark Office

T. LAWRENCE
Certifying Officer

PATENT ASSIGNMENT

1
1.1

	NEW ASSIGNMENT
EYANCE:	ASSIGNMENT

TY DATA

Name	Execution Date
nam	09/07/2011
	08/29/2011
ng	08/26/2011

PARTY DATA

	Genentech, Inc.
ress:	1 DNA Way
ddress:	MS49
	South San Francisco
untry:	CALIFORNIA
Code:	94080

ERTY NUMBERS Total: 3

Property Type	Number
T Number:	US1029280
plication Number:	12749876
pplication Number:	61165677

CH $120.00 US1029280

CORRESPONDENCE DATA

Fax Number: (650)952-9881
Phone: 6502251000
Email: trenshaw@gene.com
Correspondence will be sent to the e-mail address first; if that is unsuccessful, it will be sent via US Mail.
Correspondent Name: Genentech, Inc.
Address Line 1: 1 DNA Way
Address Line 2: MS49
Address Line 4: South San Francisco, CALIFORNIA 94080

ATTORNEY DOCKET NUMBER:	P4274R1 - ASSGN I

ITTER:	Bonny G. Yeung

ts: 6
1_executed_assignment_1#page1.tif
R1_executed_assignment_1#page2.tif
R1_executed_assignment_1#page3.tif
R1_executed_assignment_1#page4.tif
R1_executed_assignment_1#page5.tif
4R1_executed_assignment_1#page6.tif

Docket No. P4274R1

ASSIGNMENT

IEREAS,

inesh A. Kolumam, a citizen of IN, having a mailing address of 1 DNA Way, South San Francisco, A 94080, and
an Hu, a citizen of US, having a mailing address of 1 DNA Way, South San Francisco, CA 94080, and Venjun Ouyang, a citizen of US, having a mailing address of 1 DNA Way, South San Francisco, CA 4080 (hereinafter "ASSIGNORS"), have invented a new and useful invention in

TREATMENT OF INSULIN-RESISTANT DISORDERS

for which an application Serial No. PCT/US2010/029280 (Docket No. P4274R1 WO) for Letters Patent has been filed by them on March 30, 2010, and application Serial No. 12/749,876 (Docket No. P4274R1 US) for Letters Patent has been filed by them on March 30, 2010, and application Serial No. 61/165,677 (Docket No. PR4274) for Letters Patent has been filed by them on April 1, 2009, and

WHEREAS, GENENTECH, INC., a corporation organized and existing under and by virtue of the laws of the State of Delaware, having a place of business at 1 DNA Way, South San Francisco, California 94080-4990, is desirous of acquiring an interest in and to said invention, and in and to the Letters Patents to be obtained therefor;

NOW, THEREFORE, be it known by all whom it may concern;

That for good and valuable consideration the receipt of which is hereby acknowledged, the said ASSIGNORS have and do hereby sell, assign, transfer and set over unto the said GENENTECH, INC., its successors and assigns, the full and exclusive right, title and interest including all rights under the Paris Convention for the Protection of Industrial Property, in and to said invention, and in and to any and all Letters Patents to be granted and issued therefor or any continuation, division, renewal, or substitute thereof, and as to Letters Patents any reissue or re-examination thereof, not only for, to, and in the United States of America, its territories and possessions, but for, to and in all other countries; and it has been and is hereby authorized and requested that the appropriate government agencies issue said Letters Patents to said GENENTECH, INC., in accordance with this Assignment.

Said ASSIGNORS covenant and agree to cooperate with GENENTECH, INC., to enable said GENENTECH, INC. to enjoy to the fullest extent the right, title and interest herein conveyed in the United States and foreign countries. Such cooperation by said ASSIGNORS includes prompt production of pertinent facts and documents, giving of testimony, execution of petitions, oaths, specifications, declarations or other papers, and other assistance all to the extent deemed necessary or desirable by said GENENTECH, INC., (a) for perfecting the right, title and interest herein conveyed; (b) for prosecuting any of said applications; (c) for filing and prosecuting applications for reissuance of any of said patents; (d) for interference or other priority proceedings involving said invention; and (e) for legal proceedings involving said invention and any applications therefor and any patents granted thereon, including without limitation opposition proceedings, cancellation proceedings, priority contests, public use proceedings, infringement actions and court actions; provided, however, that the expense incurred by said ASSIGNORS in providing such cooperation shall be paid for by said GENENTECH, INC.

The terms and covenants of this assignment shall inure to the benefit of said GENENTECH, INC., its successors, assigns and other legal representatives, and shall be binding upon said ASSIGNORS, their respective heirs, legal representatives and assigns.

Said ASSIGNORS hereby warrant and represent that they have not entered and will not enter into any assignment, contract, or understanding in conflict herewith.

IN WITNESS WHEREOF we undersign as follows;

th San Francisco

ted: Septembers 7, 2011.

K. A. Ganesh

Ganesh A. Kolumam

ated: _____

Yan Hu

outh San Francisco

Dated: _____

Wenjun Ouyang

Docket No. P4274R1

ASSIGNMENT

WHEREAS,

Ganesh A. Kolumam, a citizen of IN, having a mailing address of 1 DNA Way, South San Francisco, CA 94080, and
Yan Hu, a citizen of US, having a mailing address of 1 DNA Way, South San Francisco, CA 94080, and
Wenjun Ouyang, a citizen of US, having a mailing address of 1 DNA Way, South San Francisco, CA 94080 (hereinafter "ASSIGNORS"), have invented a new and useful invention in

TREATMENT OF INSULIN-RESISTANT DISORDERS

for which an application Serial No. PCT/US2010/029280 (Docket No. P4274R1 WO) for Letters Patent has been filed by them on March 30, 2010, and application Serial No. 12/749,876 (Docket No. P4274R1 US) for Letters Patent has been filed by them on March 30, 2010, and application Serial No. 61/165,677 (Docket No. PR4274) for Letters Patent has been filed by them on April 1, 2009, and

WHEREAS, GENENTECH, INC., a corporation organized and existing under and by virtue of the laws of the State of Delaware, having a place of business at 1 DNA Way, South San Francisco, California 94080-4990, is desirous of acquiring an interest in and to said invention, and in and to the Letters Patents to be obtained therefor;

NOW, THEREFORE, be it known by all whom it may concern;

That for good and valuable consideration the receipt of which is hereby acknowledged, the said ASSIGNORS have and do hereby sell, assign, transfer and set over unto the said GENENTECH, INC., its successors and assigns, the full and exclusive right, title and interest including all rights under the Paris Convention for the Protection of Industrial Property, in and to said invention, and in and to any and all Letters Patents to be granted and issued therefor or any continuation, division, renewal, or substitute thereof, and as to Letters Patents any reissue or re-examination thereof, not only for, to, and in the United States of America, its territories and possessions, but for, to and in all other countries; and it has been and is hereby authorized and requested that the appropriate government agencies issue said Letters Patents to said GENENTECH, INC., in accordance with this Assignment.

Said ASSIGNORS covenant and agree to cooperate with GENENTECH, INC., to enable said GENENTECH, INC. to enjoy to the fullest extent the right, title and interest herein conveyed in the United States and foreign countries. Such cooperation by said ASSIGNORS includes prompt production of pertinent facts and documents, giving of testimony, execution of petitions, oaths, specifications, declarations or other papers, and other assistance all to the extent deemed necessary or desirable by said GENENTECH, INC., (a) for perfecting the right, title and interest herein conveyed; (b) for prosecuting any of said applications; (c) for filing and prosecuting applications for reissuance of any of said patents; (d) for interference or other priority proceedings involving said invention; and (e) for legal proceedings involving said invention and any applications therefor and any patents granted thereon, including without limitation opposition proceedings, cancellation proceedings, priority contests, public use proceedings, infringement actions and court actions; provided, however, that the expense incurred by said ASSIGNORS in providing such cooperation shall be paid for by said GENENTECH, INC.

The terms and covenants of this assignment shall inure to the benefit of said GENENTECH, INC., its successors, assigns and other legal representatives, and shall be binding upon said ASSIGNORS, their respective heirs, legal representatives and assigns.

Said ASSIGNORS hereby warrant and represent that they have not entered and will not enter into any assignment, contract, or understanding in conflict herewith.

IN WITNESS WHEREOF we undersign as follows;

South San Francisco

Dated: _____

_____

Ganesh A. Kolumam

_____

Dated: _____

_____

Yan Hu

South San Francisco

Dated: 8/26/2011

_____

Wenjun Ouyang

Docket No. P4274R1

ASSIGNMENT

WHEREAS,

Ganesh A. Kolumam, a citizen of IN, having a mailing address of 1 DNA Way, South San Francisco, CA 94080, and
Yan Hu, a citizen of US, having a mailing address of 1 DNA Way, South San Francisco, CA 94080, and
Wenjun Ouyang, a citizen of US, having a mailing address of 1 DNA Way, South San Francisco, CA 94080 (hereinafter "ASSIGNORS"), have invented a new and useful invention in

TREATMENT OF INSULIN-RESISTANT DISORDERS

for which an application Serial No. PCT/US2010/029280 (Docket No. P4274R1 WO) for Letters Patent has been filed by them on March 30, 2010, and application Serial No. 12/749,876 (Docket No. P4274R1 US) for Letters Patent has been filed by them on March 30, 2010, and application Serial No. 61/165,677 (Docket No. PR4274) for Letters Patent has been filed by them on April 1, 2009, and

WHEREAS, GENENTECH, INC., a corporation organized and existing under and by virtue of the laws of the State of Delaware, having a place of business at 1 DNA Way, South San Francisco, California 94080-4990, is desirous of acquiring an interest in and to said invention, and in and to the Letters Patents to be obtained therefor;

NOW, THEREFORE, be it known by all whom it may concern;

That for good and valuable consideration the receipt of which is hereby acknowledged, the said ASSIGNORS have and do hereby sell, assign, transfer and set over unto the said GENENTECH, INC., its successors and assigns, the full and exclusive right, title and interest including all rights under the Paris Convention for the Protection of Industrial Property, in and to said invention, and in and to any and all Letters Patents to be granted and issued therefor or any continuation, division, renewal, or substitute thereof, and as to Letters Patents any reissue or re-examination thereof, not only for, to, and in the United States of America, its territories and possessions, but for, to and in all other countries; and it has been and is hereby authorized and requested that the appropriate government agencies issue said Letters Patents to said GENENTECH, INC., in accordance with this Assignment.

Said ASSIGNORS covenant and agree to cooperate with GENENTECH, INC., to enable said GENENTECH, INC. to enjoy to the fullest extent the right, title and interest herein conveyed in the United States and foreign countries. Such cooperation by said ASSIGNORS includes prompt production of pertinent facts and documents, giving of testimony, execution of petitions, oaths, specifications, declarations or other papers, and other assistance all to the extent deemed necessary or desirable by said GENENTECH, INC., (a) for perfecting the right, title and interest herein conveyed; (b) for prosecuting any of said applications; (c) for filing and prosecuting applications for reissuance of any of said patents; (d) for interference or other priority proceedings involving said invention; and (e) for legal proceedings involving said invention and any applications therefor and any patents granted thereon, including without limitation opposition proceedings, cancellation proceedings, priority contests, public use proceedings, infringement actions and court actions; provided, however, that the expense incurred by said ASSIGNORS in providing such cooperation shall be paid for by said GENENTECH, INC.

The terms and covenants of this assignment shall inure to the benefit of said GENENTECH, INC., its successors, assigns and other legal representatives, and shall be binding upon said ASSIGNORS, their respective heirs, legal representatives and assigns.

Said ASSIGNORS hereby warrant and represent that they have not entered and will not enter into any assignment, contract, or understanding in conflict herewith.

IN WITNESS WHEREOF we undersign as follows;

South San Francisco

Dated: _____

_____
Ganesh A. Kolumam

Saint Louis, MO

Dated: 8/29/2011

_____
Yan Hu

South San Francisco

Dated: _____

_____
Wenjun Ouyang

REIVINDICACIONES

1. Un método para tratar un trastorno de resistencia a insulina en un mamífero que comprende administrar a un mamífero que lo necesite una cantidad efectiva de un antagonista de IL-17A y/o IL-17F.

2. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el trastorno es seleccionado del grupo que consiste de diabetes mellitus no insulinodependiente (NIDDM), obesidad, hiperandrogenismo ovárico e hipertensión.

3. El método de acuerdo con la reivindicación 2, en donde el trastorno es NIDDM o obesidad.

4. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el mamífero es humano y la administración es sistémica.

5. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el antagonista IL-17A y/o IL-17F es un anticuerpo o uno de sus fragmentos.

6. El método de acuerdo con la reivindicación 5, en donde el anticuerpo es un anticuerpo seleccionado del grupo que consiste de anticuerpos anti-IL-17A, anti-IL-17F, anti-IL-17A/F y anti-IL-17Rc.

7. El método de acuerdo con la reivindicación 6, en donde el anticuerpo es un anticuerpo monoclonal.

8. El método de acuerdo con la reivindicación 7, en donde el anticuerpo es un anticuerpo quimérico, humanizado o humano.

9. El método de acuerdo con la reivindicación 8, en donde el anticuerpo es un anticuerpo biespecífico, multespecífico o de reacción cruzada.

10. El método de acuerdo con la reivindicación 9 que además comprende administrar una cantidad efectiva de un agente para tratar la resistencia a insulina.

11. El método de acuerdo con la reivindicación 10, en donde el agente para tratar la resistencia a insulina es insulina, IGF-1 o una sulfonilurea.

12. El método de acuerdo con la reivindicación 10 que además comprende una cantidad efectiva de otro agente capaz de tratar dicho trastorno de resistencia a insulina.

13. El método de acuerdo con la reivindicación 12, en donde el otro agente es Dickkopf-5 (Dkk-5).

14. Una composición farmacéutica que comprende un antagonista de IL-17A y/o IL-17F en mezcla con un excipiente farmacéuticamente aceptable, para el tratamiento de un trastorno de resistencia a insulina.

15. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 14, en donde el antagonista IL-17A y/o IL-17F es un anticuerpo o uno de sus fragmentos.

16. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 15, en donde el anticuerpo es un anticuerpo seleccionado del grupo que consiste de los anticuerpos anti-IL-17A, anti-IL-17F, anti-IL-17A/F y anti-IL-17Rc.

17. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 16, en donde el anticuerpo es un anticuerpo monoclonal.

18. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 17, en donde el anticuerpo un es un anticuerpo quimérico, humanizado o humano.

19. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 18, en donde el anticuerpo es un anticuerpo biespecífico, multiespecífico o de reacción cruzada.

20. El uso de un antagonista de IL-17A y/o IL-17F en la preparación de un medicamento para el tratamiento de un trastorno de resistencia a insulina.

21. Un kit para tratar un trastorno de resistencia a insulina, en donde dicho kit comprende: (a) un contenedor que comprende un antagonista de IL-17A y/o IL-17F; y (b) un rótulo o instrucciones para administrar dicho anticuerpo para tratar dicho trastorno.

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES
EXTRACTO PARA PUBLICACIÓN
SOLICITUD DE PATENTE DE INVENCIÓN PCT

(21) N° de solicitud: (22) Fecha de solicitud: 24-08-11 (30) Prioridad (31) ***No. Prioridad*** 61/165,677 (32) ***Fecha*** 01-04-09 (33) ***País*** US	(51) Int Cl: A61K 39/395 (71) Solicitante(s): **GENENTECH, INC.** (72) Inventor(es): KOLUMAM, Ganesh, A.; HU, Yan (Helen) y OUYANG, Wenjun. (74) Apoderado: **ALICIA LLOREDA RICAURTE**
(85) Fecha límite inicio fase nacional: 01-11-11 (86) Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT Fecha de presentación de la solicitud: 30-03-10 No. de solicitud: ***PCT/US2010/029280***	(87) Publicación internacional Fecha: ***07-10-10*** N° publicación: ***WO 2010/114859 A1***
(54) Titulo: **TRATAMIENTO DE TRASTORNOS RESISTENTES A INSULINA**	

Resumen - Reivindicación(es):

Sector: Anticuerpos monoclonales o policlonales que actúan contra citoquinas, linfoquinas o interferones.

Resumen.-

La invención se refiere al tratamiento de tratamientos resistentes a insulina. En particular, la invención se refiere al tratamiento de trastornos resistentes a insulina por administración de IL-17, tales como antagonistas de IL-17A y/o IL-17F, tales como anticuerpos anti-IL-17A y/o IL-17F y/o IL-17Rc, o fragmentos de anticuerpos.

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES
TARJETA ARCHIVO TEMÁTICO

PATENTE DE INVENCION ____ PCT _X_ MODELO DE UTILIDAD ____ DISEÑO INDUSTRIAL ___

(21) N° de solicitud: (22) Fecha de solicitud: 24-08-11
(51) Clasificación Internacional: A61K 39/395

(71) Solicitante(s): **GENENTECH, INC.**

(72) Inventor(es): KOLUMAM, Ganesh, A.; HU, Yan (Helen) y OUYANG, Wenjun.

(74) Apoderado: **ALICIA LLOREDA RICAURTE**

(30) Prioridad	(31) ***No. Prioridad***	(32) ***Fecha***	(33) ***País***
	61/165,677	01-04-09	US

FIGURA CARACTERISTICA
6 x 6 cm

(85) Fecha límite inicio fase nacional: 01-11-11
(86) Datos relativos a la presentación de la solic. PCT
Fecha de presentación de la solicitud: 30-03-10
No. de solicitud: ***PCT/US2010/029280***

(87) Publicación internacional:
Fecha: ***07-10-10***
No. Publicación: ***WO 2010/114859 A1***

(54) Titulo:

TRATAMIENTO DE TRASTORNOS RESISTENTES A INSULINA

(57) Resumen:

Sector: Anticuerpos monoclonales o policlonales que actúan contra citoquinas, linfoquinas o interferones.

Resumen.-

La invención se refiere al tratamiento de tratamientos resistentes a insulina. En particular, la invención se refiere al tratamiento de trastornos resistentes a insulina por administración de IL-17, tales como antagonistas de IL-17A y/o IL-17F, tales como anticuerpos anti-IL-17A y/o IL-17F y/o IL-17Rc, o fragmentos de anticuerpos.

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES

TARJETA ARCHIVO PROPIETARIOS

PATENTE DE INVENCION ____ PCT __X__ MODELO DE UTILIDAD ____ DISEÑO INDUSTRIAL __

(21) N° de solicitud: (22) Fecha de solicitud: 24-08-11
(51) Clasificación Internacional: A61K 39/395

(71) Solicitante(s): **GENENTECH, INC.**

(72) Inventor(es): KOLUMAM, Ganesh, A.; HU, Yan (Helen) y OUYANG, Wenjun.

(74) Apoderado: **ALICIA LLOREDA RICAURTE**

(30) Prioridad	(31) ***No. Prioridad***	(32) ***Fecha***	(33) ***País***
	61/165,677	01-04-09	US

(85) Fecha límite inicio fase nacional: 01-11-11
(86) Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT
Fecha de presentación de la solicitud: 30-03-10
No. de solicitud: ***PCT/US2010/029280***

(87) Publicación internacional
Fecha: ***07-10-10***
N° publicación: ***WO 2010/114859 A1***

(54) Titulo: **TRATAMIENTO DE TRASTORNOS RESISTENTES A INSULINA**

3.

Traducción Oficial Nº 10-31-191

Traducción Oficial de un documento escrito originalmente en Inglés, el cual para identificación lleva el sello de Ilbar A. Español Español, Traductor e Intérprete Oficial, según Resolución # 0920, 1996 del Ministerio de Justicia, República de Colombia.

Esta copia coincide con el original que tuve a la vista
Bogotá D.C.
19 AGO 2011
JUANITA LALINDE GARCÍA
NOTARIA CUARENTA Y UNO (ENC)

APOSTILLA

(Convención de la Haya Octubre 1961)

1. País: ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA
2. El presente Documento Público ha sido firmado por: TERI LEE
3. actuando en calidad de: Notario Público, Estado de California
4. lleva el sello y estampilla de TERI LEE, Notario Público

CERTIFICADO

5. en Sacramento, California
6. el día tres (3) de Octubre, año 2005
7. por el Secretario Adjunto de Estado, Estado de California
8. Número: **258054**
9. Sello/Estampilla
10. Firma: (Ilegible)

Secretario de Estado

N. del T.: hay un sello dorado, seco, en relieve: "The Great Seal of the State of California"

ILBAR A. ESPAÑOL ESPAÑOL
Traductor e Interpetre Oficial
Inglés Español Inglés
Resolución Minjusticia No. 0920
Agosto de 1996

MINISTERIO DE RELACIONES EXTERIORES

17484

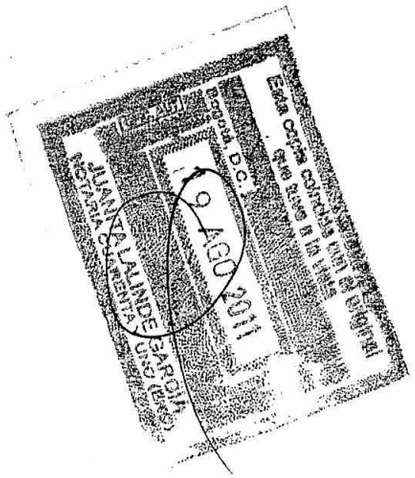
Dlbgl Español

CUYA FIRMA APARECE EN EL DOCUMENTO DESEMPEÑA LAS FUNCIONES INDICADAS

NO SE ASUME RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

2005 OCT 31 A 10:58

JEFE DE LEGALIZACIONES
SANTAFE DE BOGOTA D.C.



CALIFORNIA RECONOCIMIENTO PARA TODO FIN

Estado de California)
) ss.
Condado de San Mateo)

El día 13 de Septiembre, año 2005, ante mi, TERI LEE, Notario Público, compareció personalmente TIMOTHY R. SCHWARTZ, a quien personalmente conozco cómo la persona cuyo nombre suscribe el documento, y quien reconoció en mi presencia haber formalizado el mismo dentro de su investidura, y que mediante su firma en el documento, la persona o entidad en cuyo nombre actuó, formalizó el documento.

En TESTIMONIO firmo y sello

Firma (ilegible)

N. del T: hay un sello: TERI LEE, Comisión Nº 1514234, Notario Público, California, Condado de San Mateo.

OPCIONAL

Descripción del documento adjunto

Título o Clase de Documento: Colombia Power
Fecha: 9/13/2005
Número de páginas: 1
Firma diferente de la mencionada anteriormente: *Ninguna*

PODER DE REPRESENTACION LEGAL

Documento escrito en idioma Inglés y Español, suscrito por Genentech, Inc., con domicilio en 1 DNA Way, South San Francisco, CA 94080, EEUU.

DADO Y FIRMADO EL DIA TRECE (13) DE Septiembre año 2005

Firma (ilegible)

N. del T.: Hay un sello de tinta: Timothy R. Schwartz, Ph. D.- Asesor Sección de Patentes – Genentech, Inc. – Signatario Corporativo Autorizado.

ILBAR A. ESPAÑOL ESPAÑOL
Traductor e Interpetre Oficial
Inglés Español Inglés
Resolución Minjusticia No. 0920
Agosto de 1996

Traducción Oficial Nº 10-31-192

Traducción Oficial de un documento escrito originalmente en Inglés, el cual para identificación lleva el sello de Ilbar A. Español Español, Traductor e Intérprete Oficial, según Resolución # 0920, 1996 del Ministerio de Justicia, República de Colombia.

Esta copia coincide con el original que tuve a la vista
Bogotá, D.C.
19 AGO 2011
JUANITA LALIN DE GARCÍA
NOTARIA CUARENTA Y UNO (41)

APOSTILLA
(Convención de la Haya Octubre 1961)

1. País: ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA
2. El presente Documento Público ha sido firmado por: Harriet Smith Windsor
3. actuando en calidad de: Secretaria de Estado de Delaware
4. lleva el sello y estampilla del Despacho del Secretario de Estado

CERTIFICADO

5. en Dover, Delaware
6. el día siete (7) de Octubre, año 2005
7. por el Secretario de Estado, Departamento de Estado Delaware
8. Número: **0265282**
9. Sello/Estampilla
10. Firma: (Ilegible)

Secretario de Estado

N. del T.: hay un sello dorado, seco, en relieve: "Secretary's Office - Delaware"

ILBAR A. ESPAÑOL ESPAÑOL
Traductor e Intérprete Oficial
Inglés Español Inglés
Resolución Minjusticia No. 0920
Agosto de 1996

MINISTERIO DE RELACIONES EXTERIORES

174485

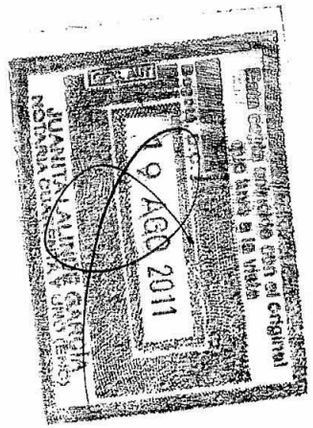
Elba Espana

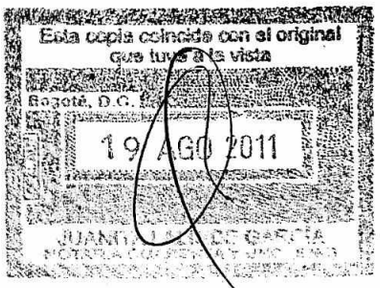
COYA FIRMA APARECE EN EL DOCUMENTO DESEMPEÑA LAS FUNCIONES INDICADAS

NO SE ASUME RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

2005 OCT 31 A 10:59

JEFE DE LEGALIZACIONES SANTAFE DE BOGOTA D.C.





DELAWARE

EL PRIMER ESTADO

YO, HARRIET SMITH WINDSOR, SECRETARIA DE ESTADO DEL ESTADO DE DELAWARE, POR EL PRESENTE CERTIFICO QUE "GENENTECH, INC." ESTA DEBIDAMENTE INCORPORADO BAJO LAS LEYES DEL ESTADO DE DELAWARE Y GOZA DE BUENA REPUTACION Y TIENE EXISTENCIA CORPORATIVA LEGAL, TAL COMO LO MUESTRAN LOS REGISTROS DE ESTE DESPACHO, EN LA FECHA DEL SIETE (7) DE OCTUBRE, AÑO 2005.

Y ADEMAS CERTIFICO QUE DICHO "GENENTECH, INC." FUE INCORPORADO EL DIA VEINTITRES (23) DE DICIEMBRE DEL AÑO 1986.

Y ADEMAS CERTIFICO QUE LOS REPORTES ANUALES HAN SIDO RADICADOS HASTA LA FECHA.

Y ADEMAS CERTIFICO QUE LOS IMPUESTOS DE FRANQUICIA HAN SIDO PAGADOS HASTA LA FECHA.

Firma (ilegible)

Harriet Smith Windsor, Secretaria de Estado

AUTENTICACIÓN: 4212779 FECHA 10-07-05

N. del T.:. Hay un sello dorado, en relieve: "Secretary´s Office – Delaware"

ILBAR A. ESPAÑOL ESPAÑOL
Traductor e Intérprete Oficial
Inglés Español Inglés
Resolución Minjusticia No. 0920
Agosto de 1996

Traducción Oficial Nº 10-31-193

Traducción Oficial de un documento escrito originalmente en Inglés, el cual para identificación lleva el sello de Ilbar A. Español Español, Traductor e Intérprete Oficial, según Resolución # 0920, 1996 del Ministerio de Justicia, República de Colombia.

APOSTILLA
(Convención de la Haya Octubre 1961)

1. País: ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA
2. El presente Documento Público ha sido firmado por: Harriet Smith Windsor
3. actuando en calidad de: Secretaria de Estado de Delaware
4. lleva el sello y estampilla del Despacho del Secretario de Estado

CERTIFICADO

5. en Dover, Delaware
6. el día siete (7) de Octubre, año 2005
7. por el Secretario de Estado, Departamento de Estado Delaware
8. Número: **0265283**
9. Sello/Estampilla
10. Firma: (Ilegible)

Secretario de Estado

N. del T.: hay un sello dorado, seco, en relieve: "Secretary´s Office - Delaware"

ILBAR A. ESPAÑOL ESPAÑOL
Traductor e Interpetre Oficial
Inglés Español Inglés
Resolución Minjusticia No. 0920
Agosto de 1996

MINISTERIO DE RELACIONES EXTERIORES

174407

Albar Espard

CUYA FIRMA APARECE EN EL DOCUMENTO DESEMPEÑA LAS FUNCIONES INDICADAS

NO SE ASUME RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

2005 OCT 31 A 10:59

JEFE DE LEGALIZACIONES SANTAFE DE BOGOTA D.C.

DELAWARE

EL PRIMER ESTADO

YO, HARRIET SMITH WINDSOR, SECRETARIA DE ESTADO DEL ESTADO DE DELAWARE, POR EL PRESENTE CERTIFICO QUE EL DOCUMENTO ADJUNTO ES UNA COPIA FIEL Y VERDADERA DEL CERTIFICADO REFORMULADO DE "GENENTECH, INC.", REGISTRADO EN ESTE DESPACHO EL DIA VEINTIDOS DE JULIO DEL AÑO 1999, A LAS 9:00 A.M.

Firma (ilegible)

Harriet Smith Windsor, Secretaria de Estado

AUTENTICACION: 4212780 FECHA: 10-07-05

N. del T. Hay un sello dorado, en relieve: "Secretary´s Office – Delaware"

ILBAR A. ESPAÑOL ESPAÑOL
Traductor e Interpetre Oficial
Inglés Español Inglés
Resolución Minjusticia No. 0920
Agosto de 1996

CERTIFICADO DE INCORPORACIÓN MODIFICADO Y REFORMULADO DE GENENTECH, INC.

Genentech, Inc. (la "**Corporación**"), una corporación organizada y existente bajo y en virtud de la Ley Corporativa General del Estado de Delaware, por el presente modifica el Certificado de Incorporación de la Corporación, qué fue registrada originalmente el 23 de diciembre,1986 bajo el nombre "Genentech Delaware, Inc.", y posteriormente modificado.

El Certificado de Incorporación de la Corporación es por el presente reformulado y adicionalmente modificado, para leerlo en su integridad como sigue:

ARTÍCULO 1

El nombre de la Corporación es: Genentech Inc.

ARTÍCULO 2

La dirección del domicilio social de la Corporación en el Estado de Delaware es Corporation Service Company, 1013 Centre Road, City of Wilmington, Condado de New Castle, Delaware 19805. El nombre de su agente registrado en tal dirección es Corporation Service Company.

ARTÍCULO 3

El objetivo social de la Corporación es llevar a cabo cualquier acto o actividad lícita para la cual puedan organizarse las corporaciones bajo la Ley Corporativa General del Estado de Delaware como la misma existe o cómo pueda modificarse de ahora en adelante ("Ley de Delaware").

ILBAR A. ESPAÑOL ESPAÑ
Traductor e Interprete Oficial
Inglés Español Inglés
Resolución Minjusticia No. 092
Agosto de 1996

ARTICULO 4

SECCI0N 4.01. *Capital Accionario.* (a) La Corporación está autorizada para emitir dos clases de acciones a ser denominadas respectivamente, acción preferencial y

acción ordinaria. La cantidad total de acciones que la Corporación está autorizada para emitir es de cuatrocientos millones (400.000.000) de acciones. Cien millones (100.000.000) se denominarán acciones preferenciales, valor nominal $0.02 por acción ("**Acción Preferencial**"). Trescientos millones (300.000.000) se denominarán acciones ordinarias, valor nominal $0.02 por acción ("**Acción Ordinaria**") La Acción Ordinaria de la Corporación, será toda de una clase.

(b) El número de acciones autorizadas de cualquier clase o clases de acciones se puede aumentar o disminuir (pero no por debajo del número de acciones de las mismas, entonces circulación) mediante el voto afirmativo de una mayoría con poder de voto de la acciones en circulación de la Corporación tituladas para votar sobre ello, independiente de las disposiciones de la Sección 242(b)(2) de Ley de Delaware.

SECCION 4.02. *Acción ordinaria. (a) Emisión y Consideración.* Cualquiera Acción Ordinaria de tesorería o no emitida, puede emitirse para tal consideración según puede fijarse de acuerdo con la ley aplicable periódicamente por la Junta Directiva.

ILBAR A. ESPAÑOL ESPAÑOL
Traductor e Interpetre Oficial
Inglés Español Inglés
Resolución Minjusticia No. 0920
Agosto de 1996

(b) *Dividendos.* Sujeto a los derechos de los titulares de las Acciones Preferenciales, los titulares de las Acciones Ordinarias tendrán derecho a recibir, cuando y cómo lo declare la Junta Directiva, de los recursos de la Corporación que por ley están disponibles para éllo, dividendos pagables o en dinero en efectivo, o en propiedades, o en acciones y los titulares de Acciones Preferenciales no tendrán derecho a participar de tales dividendos (a menos que la Junta Directiva lo disponga de otra manera mediante una resolución, estipulando la emisión de una serie de Acciones Preferenciales).

SECCI0N 4.03. *Acciones Preferenciales*

(a) Series y Límites de Variaciones entre las Series. Cualquier acción de tesorería o no emitida de Acciones Preferenciales puede emitirse periódicamente en una o más series para tal consideración, según puede fijarse periódicamente por la Junta Directiva. Antes de la emisión de alguna serie particular de Acciones Preferenciales, se debe registrar un certificado ante la Secretaría de Estado de Delaware manifestando la designación, derechos, privilegios, restricciones, y condiciones a ser adjuntas a las Acciones Preferenciales de tal serie y cualesquiera otros asuntos que sean requeridos, y la Junta Directiva fijará y determinará; y por la presente está expresamente facultada para fijar y determinar, en la manera prevista por la ley, los pormenores de las acciones de tal serie (en tanto que no sean inconsistente con las disposiciones de este Artículo 4 aplicables a todas las series de Acciones Preferenciales), incluído, pero no limitado a lo siguiente:

(i) la designación característica de tal serie y el número de acciones que constituirán la misma, cuya cantidad puede aumentarse (excepto cuando la Junta Directiva lo disponga de otra manera en la creación de tal serie) o

LEBARA ESPAÑOL ESPAÑOL
Traductor e Interprete Oficial
Inglés Español Inglés
Resolución Minjusticia No. 0920
Agosto de 1996

disminuirse (pero no por debajo del número de acciones de las mismas entonces circulantes) periódicamente mediante acción similar de la Junta Directiva.

(ii) la tasa anual de dividendos pagables sobre acciones de tal serie, las condiciones sobre las cuales tales dividendos serán pagables y la fecha desde cuando los dividendos serán acumulativos; en tal evento la Junta Directiva determinará qué dividendos serán acumulativos;

(iii) si tal serie tendrá derecho a voto, además de los derechos de votación proporcionados por la ley, y si es así, las condiciones de tales derechos a voto;

(iv) si tal serie tendrá privilegios de conversión y, en ese caso, los términos y condiciones de tal conversión, incluído, pero no limitado a, disposiciones para el ajuste de la tasa de conversión en tales eventos y en tal manera cómo lo determinará la Junta directiva;

(v) si o no, las acciones de tal serie serán redimibles y, en ese caso, los términos y condiciones de tal redención, incluso la fecha o fechas en o después de que ellas sean redimibles, y la cantidad pagable por acción en caso de redención, cuya cantidad puede variar bajo condiciones diferentes y en fechas diferentes de redención;

(vi) si tal serie tendrá un fondo de amortización para la redención o compra de acciones de esa serie y, en ese caso, las condiciones y cantidad de tal fondo de amortización;

(vii) los derechos de las acciones de tal serie en caso de liquidación voluntaria o involuntaria, disolución o liquidación de la Corporación, y los derechos de prioridad relativos, si los hay, de pago de acciones de esa serie; y

ILBAR A. ESPAÑOL ESPAÑOL
Traductor e Intérprete Oficial
Inglés Español Inglés
Resolución Minjusticia No. 0920
Agosto de 1996

(viii) cualesquiera otros derechos relacionados preferencias y limitaciones de tal serie.

ARTÍCULO 5

SECCIÓN 5.01. *Modificación de los Estatutos por los Directores.* (a.) En apoyo y no en limitación a los poderes conferidos por el estatuto, la Junta Directiva está autorizada expresamente para formular, modificar, corregir, derogar, y rescindir los estatutos de la Corporación, sujeto a las Secciones 5.01(b) y 5.01(c) del presente.

(b) Las secciones 2.02, 3.02, 3.03(a), 3.03(b), 3.04, 3.05, 3.14, y 5.06, de los estatutos sólo pueden ser modificados, corregidos, derogados, o rescindidos mediante el voto afirmativo de los titulares de capital accionario facultados para votar sobre ello y que representen más del 60% de las acciones tituladas para votación sobre las mismas.

(c) Las secciones 3.03(c) y 3.15 de los estatutos sólo pueden modificarse, corregirse, derogarse, o rescindirse, mediante el voto afirmativo de los titulares de capital accionario titulados para votar sobre ello, y que representen más del 90% de las acciones tituladas para votación sobre las mismas.

SECCIÓN 5.02. *Modificación del Certificado de Incorporación.* La sección 5.01 (b) de este Certificado de Incorporación sólo puede modificarse, corregirse, derogarse, o rescindirse, mediante el voto afirmativo de los titulares de capital accionario facultado para Votar sobre ella, que representen más del 60% de

ILBAR A. ESPAÑOL ESPAÑOL

las acciones tituladas para ser votado sobre ello. La sección 5.01 (c) y los Artículos 8 y 9 de este Certificado de Incorporación sólo pueden modificarse, corregirse, derogarse, o rescindirse mediante el voto afirmativo de los titulares de capital accionario facultado para votar sobre ello, que representen más del 90% de las acciones tituladas para ser votado sobre ello.

ARTÍCULO 6

SECCIÓN 6.01 - *Elección de Directores por los Titulares de Acciones Preferenciales.*

Durante cualquier período cuando los titulares de alguna Acción Preferencial o una o más series de las mismas, votando como una clase, sean titulados para elegir un número específico de directores, por razón de dividendos vencidos u otras disposiciones otorgándoles el derecho para hacerlo, entonces y durante ese periodo de tiempo mientras continúe el derecho (i) el entonces autorizado número de directores se aumentará por tal número especificado de directores, y los titulares de tales Acciones Preferenciales o tal serie de las mismas, votando como una clase, se facultarán para elegir a los directores adicionales previstos, de conformidad con las disposiciones de tal Acción Preferencial o serie; (ii) cada director adicional desempeñará el cargo durante tal término y tendrá tales poderes de votación como sea expresado en las disposiciones relacionadas con las Acciones Preferenciales o serie; y (iii) cuando los titulares de alguna Acción Preferencial o serie de las mismas son despojados de tales derechos para elegir un número específico de directores, votando como una clase, conforme a las disposiciones de tal Acción Preferencial o serie, los periodos del cargo de todos los directores elegidos por los titulares de Acciones Preferenciales o serie, votando como una clase conforme a tales

Esta copia coincide con el original que tuve a la vista
Bogotá, D.C.
19 AGO 2011
JUANITA LALINDE GARCÍA
NOTARIA CUARENTA Y UNO (E.N.O.)

ILBAR A. ESPAÑOL ESPAÑOL
Traductor e Interprete Oficial

disposiciones, o eligieron llenar alguna vacante resultante de la muerte, dimisión o remoción de directores elegidos por los titulares de Acciones Preferenciales o serie, terminará inmediatamente y el número autorizado de directores por consiguiente, se reducirá.

SECCIÓN 6.02. *Papeletas de votación.* Las elecciones de directores en una asamblea anual o especial no necesitan ser mediante papeletas escritas, a menos que los estatutos de la Corporación lo dispongan de otra manera.

SECCIÓN 6.03. *Eliminación de Cierta obligación Personal de los Directores.* (a.) Un director de la Corporación no será responsable ante la Corporación o ante sus accionistas por los daños y perjuicios por contravención de deberes fiduciarios monetarios como director, hasta el punto máximo permitido por la Ley de Delaware.

(b) Cada persona (y los herederos, ejecutores o administradores de tal persona) quién era o es una parte o es amenazada ser hecha una parte a, o está involucrada en alguna amenaza, pendiente o a cumplirse, de acción, demanda o procedimiento, sea civil, penal, administrativo o investigativo, por causa del hecho que tal persona es o fue un director de la Corporación, o es o estuvo desempeñando un cargo a petición de la Corporación como un director de otra corporación, sociedad, empresa conjunta, fideicomiso u otra empresa, será indemnizada y será exonerada de responsabilidad por la Corporación, hasta el punto máximo permitido por la Ley de Delaware - El derecho a indemnización conferida en esta Sección 6.03 también incluirá el derecho a ser pagado por la Corporación por los gastos incurridos en relación con cualquiera de tales

T.B.A.R.A. ESPAÑOL ESPAÑOL
Traductor e Interprete Oficial
Inglés Español Inglés

Esta copia coincide con el original que tuve a la vista
19 AGO 2011

procedimientos, anticipadamente a la disposición final, hasta el máximo punto autorizado por la Ley de Delaware. El derecho a indemnización conferida en esta Sección 6.03 será un derecho contractual.

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

(d) La Corporación tendrá la facultad para adquirir y mantener seguros en nombre de cualquier persona que es o fue director, funcionario, empleado o agente, de la Corporación o es o estuvo desempeñando un cargo a petición de la Corporación como director, funcionario, empleado o agente, de otra corporación, sociedad, empresa conjunta, fiduciaria u otra empresa; contra cualquier gasto, obligación o pérdida, incurrida por tal persona en cualquier capacidad o surgida de su status como tal, la Corporación tuviera o no la facultad para indemnizarlo contra tal obligación bajo la Ley de Delaware.

(e) Los derechos y autoridad conferidos en esta Sección 6.03 no serán excluyentes de cualquier otro derecho el cual cualquier persona de otra manera pudiera tener o adquirir de ahora en adelante.

(f) Ni la modificación, corrección, derogación o rescisión, de esta Sección 6.03, ni la adopción de cualquier provisión de este Certificado de Incorporación o los Estatutos de la Corporación, tampoco, al alcance máximo permitido por la Ley de Delaware, cualquier modificación legal, eliminará o reducirá el efecto de esta Sección 6.03 con respecto de cualesquier actos u omisiones que ocurran antes de tal modificación, corrección, derogación, rescisión, adopción o modificación.

ILBAR A. ESPAÑOL ESPAÑOL
Traductor e Interprete Oficial
Inglés Español Inglés

Esta copia coincide con el original que tuve a la vista
Bogotá, D.C.
19 AGO 2011
NOTARIA CUARENTA Y UNO (41)

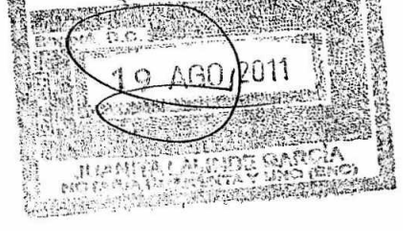
ARTÍCULO 7

SECCION 7.01. *Sección 203 de Ley de Delaware.* La Corporación por el presente, elige no ser regida por la Sección 203 de Ley de Delaware.

ARTÍCULO 8

SECCIÓN 8.01. *Relación con Roche.* En anticipación a que la Corporación deje de ser una subsidiaria totalmente propiedad de Roche Holdings, Inc., pero que Roche (como se definió en la Sección 8.05) siga siendo accionista de la Corporación, y en anticipación a que la Corporación (como se definió en la sección 8.05) y Roche puedan involucrarse en similares o en las mismas actividades o líneas comerciales y tengan interés en las mismas áreas de oportunidades corporativas, y en reconocimiento de (i) los beneficios a ser derivados por la Corporación a través de sus continuas relaciones contractuales, corporativas y comerciales con Roche (incluyendo el servicio de funcionarios y directores de Roche como directores de la Corporación) y (ii) las dificultades inherentes a cualquier director quien desea y se esfuerza plenamente para satisfacer tales obligaciones fiduciarias del director, en la determinar el alcance total de tales obligaciones en una situación particular, las disposiciones de este Artículo 8 son expresadas para regular, definir y guiar la conducta de ciertos negocios de la Corporación por cuanto ellos pueden involucrar a Roche y a sus funcionarios y directores, y las facultades, derechos obligaciones y responsabilidades de la Corporación y sus funcionarios, directores y accionistas en conexión con las mismas.

SECCIÓN 8.02. *Actividades Comerciales Similares.* Excepto que Roche Holdings, Inc - pueda de otro modo aceptar por escrito.



ILBAR A. ESPAÑOL ESPAÑOL
Traductor e Interprete Oficial

(a) Roche no tendrá una obligación de abstenerse, de comprometerse directa o indirectamente, en las mismas o similares actividades comerciales o líneas comerciales como la Corporación, y

(b) ni Roche ni ningún funcionario o director del mismo serán responsables ante la Corporación o ante sus accionistas por la trasgresión de cualquier deber fiduciario por causa de cualquiera de tales actividad de Roche o de la participación en ello de tal persona.

En caso que Roche tenga conocimiento de una transacción potencial o materia que pueda ser una oportunidad corporativa para Roche y la Corporación;

Roche no tendrá el deber de comunicar u ofrecer tal oportunidad corporativa a la Corporación y no será responsable ante la Corporación o ante sus accionistas por la trasgresión de cualquier deber fiduciario como accionista de la Corporación o persona controladora de un accionista por el hecho que Roche prosiga o adquiera tal oportunidad corporativa para sí misma, dirija tal oportunidad corporativa a otra persona o entidad o no comunique la información referente, o no ofrezca tal oportunidad corporativa a la Corporación.

SECCIÓN 8.03. *Oportunidades Corporativas*. En caso que un director, funcionario o empleado de la Corporación que también es director, funcionario o empleado de Roche, tenga conocimiento de una transacción potencial o material que pueda ser una oportunidad corporativa para la Corporación y Roche (si tal transacción potencial o material es propuesta por un tercero o es concebida por tal director, funcionario o empleado de la Corporación), tal director, funcionario o empleado tendrá el privilegio de ofrecer tal oportunidad corporativa a la Corporación o a Roche, según tal director, funcionario o

ILBARA. ESPAÑOL ESPAÑOL
Traductor e Interprete Oficial
Inglés Español Inglés
Resolución Ministricia No. 0020

Esta copia coincide con el original que tuve a la vista
19 AGO 2011
JUANITA LALINDE GARCIA
NOTARIA CUARENTA Y UNO (ENCO)

empleado, lo juzgue apropiado bajo las circunstancias y a su entera discreción; y ningún director, funcionario o empleado, será responsable ante la Corporación o ante sus Accionistas por la infracción de cualquier deber fiduciario o deber de lealtad o falta de actuar en (o no opuesto a) los mejores intereses de la Corporación o la derivación de cualquier beneficio personal impropio por causa del hecho que (i) tal director, funcionario o empleado, ofreció tal oportunidad corporativa a Roche (en lugar de la Corporación) o no comunicó la información referente a tal oportunidad corporativa a la Corporación o (ii) Roche prosigue o adquiere tal oportunidad corporativa para sí mismo o dirige tal oportunidad corporativa a otra persona o no comunica la información referente a tal oportunidad corporativa a la Corporación.

SECCIÓN 8.04. *Consentimiento Implícito de los Accionistas*. Cualquier persona o entidad comprando o adquiriendo algún interés en cualquier acción del capital accionario de la Corporación será considerada que ha tenido aviso de y ha consentido a las disposiciones de este Artículo 8.

SECCIÓN 8.05. *Definiciones*. Para los propósitos de este Artículo 8 y Artículo 9 solamente, (i) el término "**Corporación**" significará la Corporación y todas las corporaciones, sociedades, empresas conjuntas, asociaciones y otras entidades en las cuales la Corporación posea beneficiosamente (directa o indirectamente) cincuenta por ciento o más de las acciones votantes en circulación, poder de voto o intereses de votación similares, y (ii) el término "**Roche**" significará Roche Holdings, Inc. y todas las corporaciones, sociedades, empresas conjuntas , asociaciones y otras entidades (diferentes de la

ILBAR A. ESPAÑOL ESPAÑOL
Traductor e Interprete Oficial
Inglés Español Inglés

Esta copia coincide con el original que tuvo a la vista
BAYAMÓN, P.R.
19 AGO 2011
JUANITA LALINDE GARCÍA
NOTARIA CUARENTA Y UNO

Corporación, definida de acuerdo con la cláusula (i) de esta Sección 8.05) que son las "**afiliadas**" (como se definió en la Norma 12b-2 bajo las Leyes de la Bolsa de Valores (Securities Exchange) de 1934, (según enmienda) de Roche Holdings. Inc.

SECCIÓN 8.06. *Terminación: Efecto Vinculante.* No obstante algo al contrario en este Certificado de Incorporación, las disposiciones anteriores de este Artículo 8 expirarán en la fecha cuando Roche deje de poseer Acciones Ordinarias que representen por lo menos el 5% del número de acciones circulantes de Acciones Ordinarias de la Corporación y ninguna persona que siendo director o funcionario de la Corporación, sea también director o funcionario de Roche. Tampoco tal expiración, ni la modificación, corrección, cambio o derogación, de cualquier provisión de este Artículo 8, tampoco la adopción de cualquier provisión de este Certificado de Incorporación Enmendado y Reformulado, inconsistente con cualquier provisión de este Artículo 8, eliminará o reducirá el efecto de este Artículo 8 con respecto de cualquier asunto que ocurra o cualquier causa de acción, demanda o reivindicación que, pero para este Artículo 8, se acumulara o surgiera, antes de tal expiración, modificación, corrección, revocación o adopción.

SECCIÓN 8.07. *Artículo 9.* Las disposiciones de este Artículo 8 son adiciones a las disposiciones del Artículo 9.

ARTÍCULO 9

SECCIÓN 9.01. *Acuerdos no Invalidados.* Ningún contrato, acuerdo, arreglo o transacción (o cualquier corrección, modificación o terminación de ellos) entre

ILBARA. ESPAÑOL ESPAÑOL
Traductor e Interprete Oficial
Inglés Español Inglés

Esta copia concuerda con el original
que tuve a la vista
Bogotá, D.C.
19 AGO 2011
NOTARIA LAURA INES GARCIA
NOTARIA CUARENTA Y UNO (41)

la Corporación y Roche será inválido, nulo o anulable, solamente por la razón que Roche es una de las partes de ellos o solamente porque algunos directores o funcionarios de la Corporación quienes están afiliados con Roche, están presentes en o participan en la asamblea de la Junta Directiva o comité de los mismos, lo cual autoriza el contrato, acuerdo, arreglo, transacción, corrección, modificación o terminación, o solamente porque su o sus votos se cuentan para tal propósito; pero tal contrato, acuerdo, arreglo o transacción (o cualquier corrección, modificación o terminación de los mismos) se regirá por las disposiciones de estos Estatutos de la Corporación Modificados y Reformulados, los Estatutos de la Corporación, la Ley de Delaware y alguna otra ley aplicable. Para los propósitos de este Artículo 9, las expresiones la "**Corporación**" y "**Roche**" tienen los significados manifestados en la Sección 8.05.

SECCIÓN 9.02. *Quórum.* Los Directores de la Corporación que también son directores o funcionarios de Roche pueden ser contabilizados en la determinación de la presencia de un quórum en una asamblea de la Junta Directiva o de un comité que autoriza o aprueba algún contrato, acuerdo, arreglo o transacción (o corrección, modificación o terminación del mismo). Las Acciones Circulantes Ordinarias poseídas por Roche pueden contabilizarse para la determinación de la presencia de un quórum en una asamblea de accionistas que autoriza o aprueba cualquier contrato, acuerdo, arreglo o transacción (o corrección, modificación o terminación del mismo).

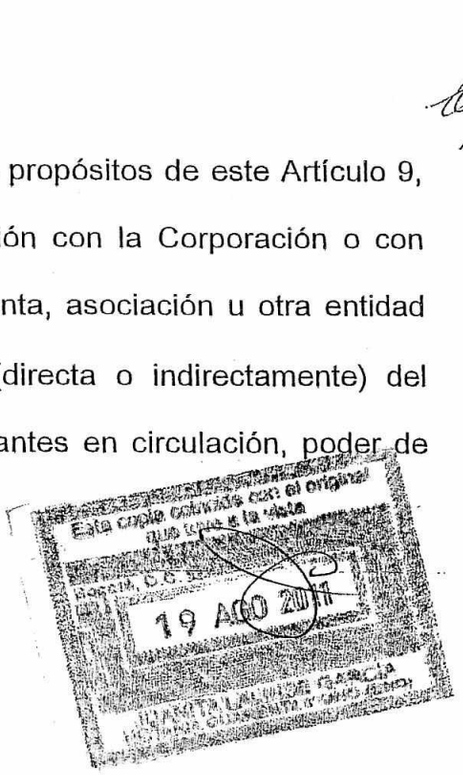
ILBAR A. ESPAÑOL ESPAÑOL
Traductor e Interpetre Oficial
Inglés Español Inglés
Resolución Ministerial No. 0020

Esta copia coincide con el original que tuve a la vista
Bogotá, D.C.
19 AGO 2011
JUANITA LALINDE GARCÍA
NOTARIA QUINCUAGESIMA (ENC)

SECCIÓN 9.03 - *Ninguna Responsabilidad Por Actividades de Buena Fe.* Roche ni cualquier funcionario o director será responsable ante la Corporación o ante los accionistas para la infracción de cualquier deber fiduciario o deber de lealtad o falta para actuar en (o no opuesto a) los mejores intereses de la Corporación o la derivación de cualquier beneficio personal impropio por el hecho de que Roche o algún funcionario o director del mismo, emprende cualquier acción o ejerce algunos derechos o entrega o retiene de buena fe cualquier aprobación en relación con cualquier acuerdo o contrato entre Roche y la Corporación. Ningún voto sufragado u otra acción tomada por alguna persona que es director, funcionario u otro representante de Roche, cuyo voto es sufragado o tal persona emprende una acción en su capacidad como director de esta Corporación, constituirá una acción de o el ejercicio de un derecho por o un consentimiento de Roche para los efectos de algún acuerdo o contrato.

SECCIÓN 9.04. *Consentimiento Implícito de los Accionistas*. Cualquier persona o entidad comprando o adquiriendo algún interés en cualquier acción del capital accionario de la Corporación será considerada que ha tenido aviso de y ha consentido a las disposiciones de este Artículo 9.

SECCIÓN 9.05 - *Contratos Protegidos*. Para los propósitos de este Artículo 9, cualquier contrato, acuerdo, arreglo o transacción con la Corporación o con cualquier corporación, sociedad, empresa conjunta, asociación u otra entidad en la cual la Corporación posea beneficios (directa o indirectamente) del cincuenta por ciento o más de la acciones votantes en circulación, poder de



ILBAR A. ESPAÑOL ESPAÑOL
Traductor e Interprete Oficial
Inglés Español Inglés

voto o intereses de votación similares, se juzgará ser un contrato, acuerdo, arreglo o transacción con la Corporación.

SECCIÓN 9.06. *Efecto Vinculante*. Ni la modificación, corrección, cambio o derogación de cualquier provisión de este Artículo 9, tampoco la adopción de cualquier provisión inconsistente con cualquier provisión de este Artículo 9, eliminará o reducirá el efecto de este Artículo 9 con respecto de cualquier asunto que ocurra o cualquier causa de acción, demanda o reivindicación que, pero para este Artículo 9, se acumulara o surgiera, antes de tal alteración, modificación, cambio, revocación o adopción.

SECCIÓN 9.07. *Artículo 8*. Las disposiciones de este Artículo 9 son en adición a las disposiciones del Artículo 8.

EN TESTIMONIO DE LO CUAL, este Certificado de Incorporación Modificado y Reformulado, habiendo sido debidamente adoptado de acuerdo con las Secciones 242 y 245 de la Ley Corporativa General del Estado de Delaware y por el consentimiento escrito del único accionista de la Corporación de acuerdo con la Sección 228 de la Ley Corporativa General del Estado de Delaware, ha sido otorgado este día veintidós (22) de Julio, 1999.

GENENTECH, INC.
Por: /s/ Stephen G. Juelsgaard
Nombre: Stephen G. Juelsgaard
Título; Vicepresidente Senior.
Asesor General y Secretario.

ILBAR A. ESPAÑOL ESPAÑOL
Traductor e Interprete Oficial
Inglés Español Inglés
Resolución Minjusticia No. 0920
Agosto de 1996

Traducción Oficial Nº 10-31-194

Traducción Oficial de un documento escrito originalmente en Inglés, el cual para identificación lleva el sello de Ilbar A. Español Español, Traductor e Intérprete Oficial, según Resolución # 0920, 1996 del Ministerio de Justicia, República de Colombia.

APOSTILLA

(Convención de la Haya Octubre 1961)

1. País: ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA
2. El presente Documento Público ha sido firmado por: Harriet Smith Windsor
3. actuando en calidad de: Secretaria de Estado de Delaware
4. lleva el sello y estampilla del Despacho del Secretario de Estado

CERTIFICADO

5. en Dover, Delaware
6. el día siete (7) de Octubre, año 2005
7. por el Secretario de Estado, Departamento de Estado Delaware
8. Número: **0265284**
9. Sello/Estampilla
10. Firma: (Ilegible)

Secretario de Estado

N. del T.: hay un sello dorado, seco, en relieve: "Secretary´s Office - Delaware"

ILBAR A. ESPAÑOL ESPAÑOL
Traductor e Interpetre Oficial
Inglés Español Inglés
Resolución Minjusticia No. 0920
Agosto de 1996

MINISTERIO DE RELACIONES EXTERIORES

174488

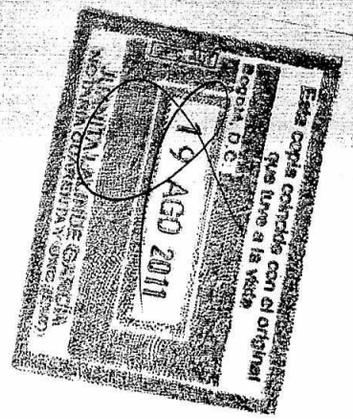
Elba Español

CUYA FIRMA APARECE EN EL DOCUMENTO DESEMPEÑA LAS FUNCIONES INDICADAS

NO SE ASUME RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

2005 OCT 31 A 10:59

JEFE DE LEGALIZACIONES SANTAFE DE BOGOTA D.C.



DELAWARE

EL PRIMER ESTADO

YO, HARRIET SMITH WINDSOR, SECRETARIA DE ESTADO DEL ESTADO DE DELAWARE, POR EL PRESENTE CERTIFICO QUE EL DOCUMENTO ADJUNTO ES UNA COPIA FIEL Y VERDADERA DEL CERTIFICADO DE MODIFICACION DE "GENENTECH, INC.", REGISTRADO EN ESTE DESPACHO EL DIA QUINCE (15) DE MAYO DEL AÑO 2000, A LAS 5:00 P.M.

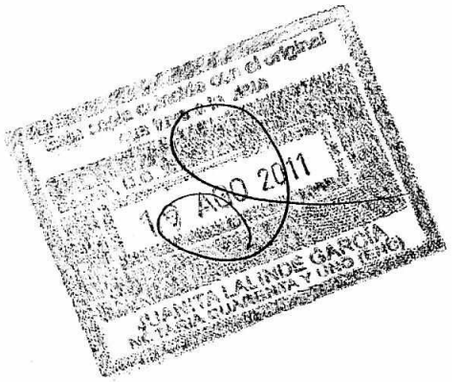
Firma (ilegible)

Harriet Smith Windsor, Secretaria de Estado

AUTENTICACION: 4212781 FECHA: 10-07-05

N. del T. Hay un sello dorado, en relieve: "Secretary's Office, Delaware"

ILBAR A. ESPAÑOL ESPAÑOL
Traductor e Interprete Oficial
Inglés Español Inglés
Resolución Minjusticia No. 0920
Agosto de 1996



ESTADO DE DELAWARE
SECRETARIA DE ESTADO
DIVISIÓN DE CORPORACIONES
ARCHIVADO 05:00 PM 05/15/2000
001245251 – 2112549

CERTIFICADO DE MODIFICACION
DEL CERTIFICADO DE INCORPORACIÓN MODIFICADO Y REFORMULADO

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

POR LA PRESENTE CERTIFICA:

PRIMERO: Que en una asamblea de la Junta Directiva de Genentech, Inc. se adoptaron debidamente las resoluciones expresando una propuesta modificación al Certificado de Incorporación Modificado y Reformulado de dicha corporación, declarando que dicha modificación era aconsejable y convocando una asamblea de los accionistas de dicha corporación para la consideración de ello. La resolución expresando la propuesta modificación es la siguiente:

RESUELTO, que el Certificado de Incorporación Modificado y Reformulado de esta corporación se modifique cambiando "Sección 4.01 (a)" del Artículo número "4" para que una vez modificada dicha Sección y dicho Artículo se lea como sigue:

"Sección 4.01. *Capital Accionario*. (a) La Corporación está autorizada para emitir dos clases de acciones a ser denominadas: acción preferencial y acción ordinaria, respectivamente. La cantidad total de acciones que la Corporación está autorizada para emitir es de setecientos millones

ILBAR A. ESPAÑOL ESPAÑOL
Traductor e Interprete Oficial
Inglés Español Inglés
Resolución Minjusticia No. 0920
Agosto de 1996

19 AGO 2011

(700.000.000) de acciones. Cien millones (100.000.000) se denominarán acciones preferenciales, con un valor nominal de $0.02 por acción ("Acción Preferencial"). Seiscientos millones (600.000,000) se denominarán acciones ordinarias, con un valor nominal de $0.02 por acción ("Acción Ordinaria"). La Acción ordinaria de la Corporación será toda de una clase."

SEGUNDO: Que posteriormente, de acuerdo con la resolución de su Junta Directiva, la asamblea regular de los accionistas de la corporación fue debidamente convocada y notificada de acuerdo con la Sección 222 de la Ley Corporativa General del Estado de Delaware, en cuya asamblea el número necesario de acciones requeridas por los estatutos votó a favor de la modificación.

TERCERO: Que dicha modificación se adoptó debidamente de acuerdo con las disposiciones de la Sección 242 de la Ley Corporativa General del Estado de Delaware.

CUARTO: Que el capital de la corporación no se reducirá bajo o por causa de dicha modificación.

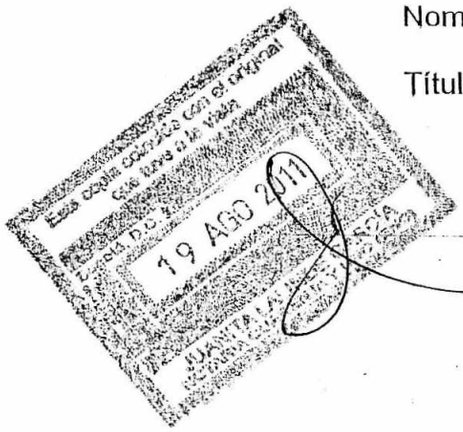
EN TESTIMONIO DE LO CUAL, dicho Genentech, Inc. ha ordenado que este Certificado de Modificación sea suscrito por Stephen G. Juelsgaard, un Funcionario Autorizado, este día quince (15) de Mayo, año 2000.

GENENTECH, INC.

Por: (firma ilegible)

Nombre: Stephen G. Juelsgaard

Título: Vicepresidente Senior, Asesor General y Secretario.



ILBAR A. ESPAÑOL ESPAÑOL
Traductor e Interpetre Oficial
Inglés Español Inglés
Resolución Minjusticia No. 0920
Agosto de 1996

Traducción Oficial Nº 10-31-195

Traducción Oficial de un documento escrito originalmente en Inglés, el cual para identificación lleva el sello de Ilbar A. Español Español, Traductor e Intérprete Oficial, según Resolución # 0920, 1996 del Ministerio de Justicia, República de Colombia.

APOSTILLA

(Convención de la Haya Octubre 1961)

1. País: ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA
2. El presente Documento Público ha sido firmado por: Harriet Smith Windsor
3. actuando en calidad de: Secretaria de Estado de Delaware
4. lleva el sello y estampilla del Despacho del Secretario de Estado

CERTIFICADO

5. en Dover, Delaware
6. el día siete (7) de Octubre, año 2005
7. por el Secretario de Estado, Departamento de Estado Delaware
8. Número: **0265285**
9. Sello/Estampilla
10. Firma: (Ilegible)

Secretario de Estado

N. del T.: hay un sello dorado, seco, en relieve: "Secretary´s Office - Delaware"

ILBAR A. ESPAÑOL ESPAÑOL
Traductor e Interpetre Oficial
Inglés Español Inglés
Resolución Minjusticia No. 0920
Agosto de 1996

MINISTERIO DE RELACIONES EXTERIORES

17488

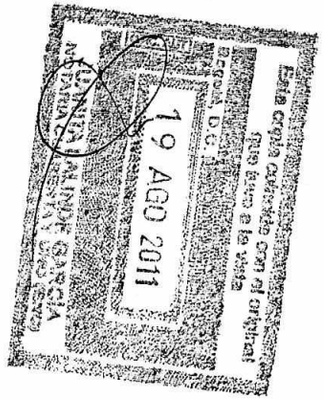
Ilbar Espand

CUYA FIRMA APARECE EN EL DOCUMENTO DESEMPEÑA LAS FUNCIONES INDICADAS

NO SE ASUME RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

2005 OCT 31 A 10:59

JEFE DE LEGALIZACIONES SANTAFE DE BOGOTA D.C.



DELAWARE

EL PRIMER ESTADO

YO, HARRIET SMITH WINDSOR, SECRETARIA DE ESTADO DEL ESTADO DE DELAWARE, POR EL PRESENTE CERTIFICO QUE EL DOCUMENTO ADJUNTO ES UNA COPIA FIEL Y VERDADERA DEL CERTIFICADO MODIFICADO DE "GENENTECH, INC.", REGISTRADO EN ESTE DESPACHO EL DIA DIEZ (10) DE MAYO DEL AÑO 2001, A LAS 2:05 P.M.

Firma: Harriet Smith Windsor, Secretaria de Estado

AUTENTICACION: 4212782 FECHA: 10-07-05

N. del T. Hay un sello dorado, en relieve: "Secretary´s Office – Delaware"

ILBAR A. ESPAÑOL ESPAÑOL
Traductor e Interpetre Oficial
Inglés Español Inglés
Resolución Mijjusticia No. 0920
Agosto de 1996

ESTADO DE DELAWARE
SECRETARIA DE ESTADO
DIVISIÓN DE CORPORACIONES
ARCHIVADO 02:05 PM 05/10/2001
010226224 – 2112549

CERTIFICADO DE MODIFICACION
DEL CERTIFICADO DE INCORPORACIÓN MODIFICADO Y REFORMULADO

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

POR LA PRESENTE CERTIFICA:

PRIMERO: Que en una asamblea de la Junta Directiva de Genentech, Inc. se adoptaron debidamente las resoluciones expresando una propuesta modificación al Certificado de Incorporación Modificado y Reformulado de dicha corporación, declarando que dicha modificación era aconsejable y convocando una asamblea de los accionistas de dicha corporación para la consideración de ello. La resolución expresando la propuesta modificación es la siguiente:

RESUELTO, que el Certificado de Incorporación Modificado y Reformulado de esta corporación se modifique cambiando "Sección 4.01 (a)" del Artículo número "4" para que una vez modificada dicha Sección y dicho Artículo se lea como sigue:

"Sección 4.01. *Capital Accionario*. (a) La Corporación está autorizada para emitir dos clases de acciones a ser denominadas: acción preferencial y acción ordinaria, respectivamente. La cantidad total de acciones que la Corporación está autorizada para emitir es de mil trescientos millones

ILBAR A. ESPAÑOL ESPAÑOL
Traductor e Interprete Oficial
Inglés Español Inglés
Resolución Minjusticia No. 0920
Agosto de 1996

(1.300.000.000) de acciones. Cien millones (100.000.000) se denominarán acciones preferenciales, con un valor nominal de $0.02 por acción ("Acción Preferencial"). Un mil doscientos millones (1.200.000.000) se denominarán acciones ordinarias, con un valor nominal de $0.02 por acción ("Acción Ordinaria"). La Acción Ordinaria de la Corporación será toda de una clase."

SEGUNDO: Que posteriormente, de acuerdo con la resolución de su Junta Directiva, la asamblea regular de los accionistas de la corporación fue debidamente convocada y notificada de acuerdo con la Sección 222 de la Ley Corporativa General del Estado de Delaware, en cuya asamblea el número necesario de acciones requeridas por los estatutos votó a favor de la modificación.

TERCERO: Que dicha modificación se adoptó debidamente de acuerdo con las disposiciones de la Sección 242 de la Ley Corporativa General del Estado de Delaware.

CUARTO: Que el capital de la corporación no se reducirá bajo o por causa de dicha modificación.

EN TESTIMONIO DE LO CUAL, dicho Genentech, Inc. ha ordenado que este Certificado de Modificación sea suscrito por Stephen G. Juelsgaard, un Funcionario Autorizado, este día diez (10) de Mayo, año 2001.

GENENTECH, INC.

Por: (firma ilegible)

Nombre: Stephen G. Juelsgaard

Título: Vicepresidente Senior, Asesor General y Secretario.

ILBAR A. ESPAÑOL ESPAÑOL
Traductor e Interpetre Oficial
Inglés Español Inglés
Resolución Minjusticia No. 0920
Agosto de 1996

Esta copia coincide con el original que tuvo a la vista
19 AGO 2011

Esta copia coincide con el original
que tuve a la vista
19 AGO 2011

Traducción Oficial Nº 10-31-196

Traducción Oficial de un documento escrito originalmente en Inglés, el cual para identificación lleva el sello de Ilbar A. Español Español, Traductor e Intérprete Oficial, según Resolución # 0920, 1996 del Ministerio de Justicia, República de Colombia.

APOSTILLA

(Convención de la Haya Octubre 1961)

1. País: ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA
2. El presente Documento Público ha sido firmado por: Harriet Smith Windsor
3. actuando en calidad de: Secretaria de Estado de Delaware
4. lleva el sello y estampilla del Despacho del Secretario de Estado

CERTIFICADO

5. en Dover, Delaware
6. el día siete (7) de Octubre, año 2005
7. por el Secretario de Estado, Departamento de Estado Delaware
8. Número: **0265286**
9. Sello/Estampilla
10. Firma: (Ilegible)

Secretario de Estado

N. del T.: hay un sello dorado, seco, en relieve: "Secretary´s Office - Delaware"

ILBAR A. ESPAÑOL ESPAÑOL
Traductor e Interprete Oficial
Inglés Español Inglés
Resolución Minjusticia No. 0920
Agosto de 1996

MINISTERIO DE RELACIONES EXTERIORES

17490

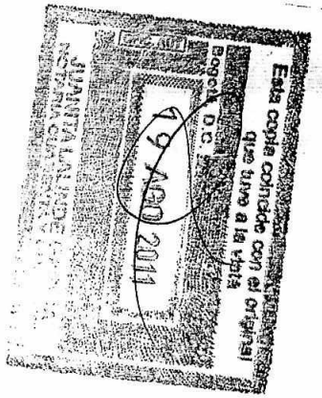
Ilbar Espanol

CUYA FIRMA APARECE EN EL DOCUMENTO DESEMPEÑA LAS FUNCIONES INDICADAS

NO SE ASUME RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

2005 OCT 31 A 11:00

JEFE DE LEGALIZACIONES SANTAFE DE BOGOTA D.C.



DELAWARE

EL PRIMER ESTADO

YO, HARRIET SMITH WINDSOR, SECRETARIA DE ESTADO DEL ESTADO DE DELAWARE, POR EL PRESENTE CERTIFICO QUE EL DOCUMENTO ADJUNTO ES UNA COPIA FIEL Y VERDADERA DEL CERTIFICADO MODIFICADO DE "GENENTECH, INC.", REGISTRADO EN ESTE DESPACHO EL DIA DIEZ Y SEIS (16) DE ABRIL DEL AÑO 2004, A LAS 7:39 P.M.

Firma: Harriet Smith Windsor, Secretaria de Estado

AUTENTICACION: 4212783 FECHA: 10-07-05

N. del T. Hay un sello dorado, en relieve: "Secretary´s Office – Delaware"

ILBAR A. ESPAÑOL ESPAÑOL
Traductor e Interpetre Oficial
Inglés Español Inglés
Resolución Minjusticia No. 0920
Agosto de 1996

Esta copia coincide con el original
que tuve a la vista
19 AGO 2011

ESTADO DE DELAWARE
SECRETARIA DE ESTADO
DIVISIÓN DE CORPORACIONES
ARCHIVADO 07:39 PM 04/16/2004
040281669 – 2112549

CERTIFICADO DE TERCERA MODIFICACION DEL CERTIFICADO DE INCORPORACIÓN MODIFICADO Y REFORMULADO

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

POR LA PRESENTE CERTIFICA:

PRIMERO: Que en una asamblea de la Junta Directiva de Genentech, Inc. se adoptaron debidamente las resoluciones expresando una propuesta modificación al Certificado de Incorporación Modificado y Reformulado de dicha corporación, declarando que dicha modificación era aconsejable y convocando una asamblea de los accionistas de dicha corporación para la consideración de ello. La resolución expresando la propuesta modificación es la siguiente:

RESUELTO, que el Certificado de Incorporación Modificado y Reformulado de esta corporación se modifique cambiando "Sección 4.01 (a)" del Artículo número "4" para que una vez modificada dicha Sección y dicho Artículo se lea como sigue:

"Sección 4.01. *Capital Accionario*. (a) La Corporación está autorizada para emitir dos clases de acciones a ser denominadas: acción preferencial y acción ordinaria, respectivamente. La cantidad total de acciones que la Corporación está autorizada para emitir es de tres mil cien millones

Esta copia coincide con el original que tuve a la vista
19 AGO 2011

ILBAR A. ESPAÑOL ESPAÑOL
Traductor e Interprete Oficial
Inglés Español Inglés
Resolución Minjusticia No. 0920
Agosto de 1996

Esta copia coincide con el original
que tuve a la vista
19 AGO 2011

(3.100.000.000) de acciones. Cien millones (100.000.000) se denominarán acciones preferenciales, con un valor nominal de $0.02 por acción ("Acción Preferencial"). Tres mil millones (3.000.000.000) se denominarán acciones ordinarias, con un valor nominal de $0.02 por acción ("Acción Ordinaria"). La Acción Ordinaria de la Corporación será toda de una clase."

SEGUNDO: Que posteriormente, de acuerdo con la resolución de su Junta Directiva, la asamblea regular de los accionistas de la corporación fue debidamente convocada y notificada de acuerdo con la Sección 222 de la Ley Corporativa General del Estado de Delaware, en cuya asamblea el número necesario de acciones requeridas por los estatutos votó a favor de la modificación.

TERCERO: Que dicha modificación se adoptó debidamente de acuerdo con las disposiciones de la Sección 242 de la Ley Corporativa General del Estado de Delaware.

CUARTO: Que el capital de la corporación no se reducirá bajo o por causa de dicha modificación.

EN TESTIMONIO DE LO CUAL, dicho Genentech, Inc. ha ordenado que este Certificado de Modificación sea suscrito por Stephen G. Juelsgaard, un Funcionario Autorizado, este día diez y seis (16) de Abril, año 2004.

GENENTECH, INC.

Por: (firma ilegible)

Nombre: Stephen G. Juelsgaard

Título: Vicepresidente Senior, Asesor General y Secretario.

ILBAR A. ESPAÑOL ESPAÑOL
Traductor e Interpetre Oficial
Inglés Español Inglés
Resolución Minjusticia No. 0920
Agosto de 1996

Esta copia coincide con el original
que tuve a la vista
Bogotá, D.C.
19 AGO 2011
JUANITA LALINDE GARCIA
NOTARIA CUARENTA Y UNO (ENC)

State of California

SECRETARY OF STATE

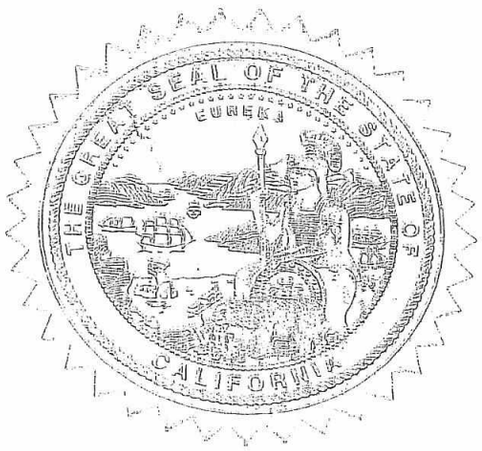
APOSTILLE

(Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

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

CERTIFIED

5. *At Sacramento, California*
6. *the 3rd day of October 2005*
7. *by Deputy Secretary of State, State of California*
8. *No. 258054*
9. *Seal/Stamp:*



10. *Signature*

Bruce McPherson

Secretary of State

NP-24 A (REV. 4-05)

BY

OSP 05 907

CALIFORNIA ALL-PURPOSE ACKNOWLEDGMENT

State of California
County of San Mateo } ss.

On 9/13/2005 (Date) before me, Teri Lee, Notary Public (Name and Title of Officer (e.g., "Jane Doe, Notary Public"))

personally appeared Timothy R. Schwartz (Name(s) of Signer(s))

☒ personally known to me
☐ proved to me on the basis of satisfactory evidence

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

TERI LEE
Commission # 1514234
Notary Public - California
San Mateo County
My Comm. Expires Sep 18, 2008

WITNESS my hand and official seal.

Teri Lee
Signature of Notary Public

OPTIONAL

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

Description of Attached Document

Title or Type of Document: Columbia Power

Document Date: 9/13/2005 Number of Pages: 1

Signer(s) Other Than Named Above: None

Capacity(ies) Claimed by Signer

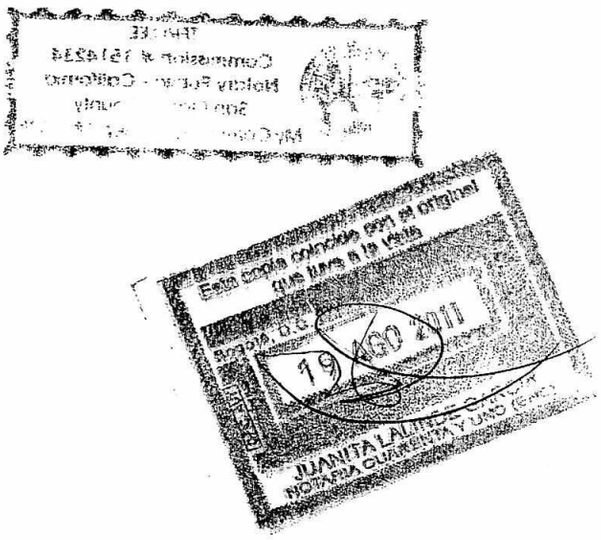
Signer's Name: _____

RIGHT THUMBPRINT OF SIGNER
Top of thumb here

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

Signer Is Representing: _____

© 1999 National Notary Association • 9350 De Soto Ave., P.O. Box 2402 • Chatsworth, CA 91313-2402 • www.nationalnotary.org Prod. No. 5907 Reorder: Call Toll-Free 1-800-876-6827



Esta copia coincide con el original que tuve a la vista

Bogotá, D.C.

19 AGO 2011

JUANITA LALINDE GARCIA
NOTARIA CUARENTA Y UNO (E.N.C.)

Los abajo firmados,

GENENTECH, INC.
Una sociedad organizada y existente bajo las leyes del Estado de Delaware [illegible], Estados Unidos de America.

con domicilio en

1 DNA way
South San Francisco, CA 94080, USA

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

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

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

Dado y firmado a los 13 dias de Sep. 2005

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

The undersigned,

Genentech, Inc
A Corporate organized and existing und
domiciled at laws od State of Delaware [illegible], E.U

1 DNA Way
South San Francisco, CA 94080, USA

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

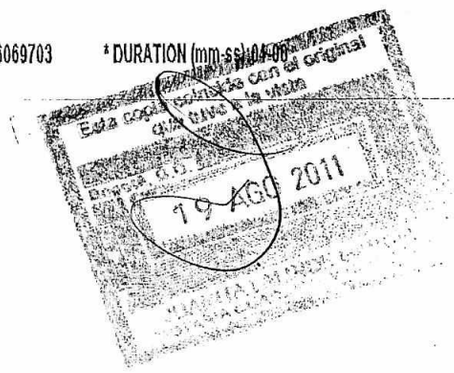
Doctors ALICIA LLOREDA and/or GUSTAVO TAMAYO and/or IGNACIO SANTAMARIA and/or ENRIQUE ALVAREZ, or the agents by any one of them appointed, are especially empowered to represent us before the administrative, judicial or police authorities of Colombia, in all proceedings pertaining to industrial property,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

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

Given and signed this 13 Sept 2005

NOTA RY SHOULD EXECUTE OTHER SIDE

See attached.



Apostille

(Convention de La Haye du 5 Octobre 1961)

1. Country: United States of America

This public document:

2. has been signed by Harriet Smith Windsor

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

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

Certified

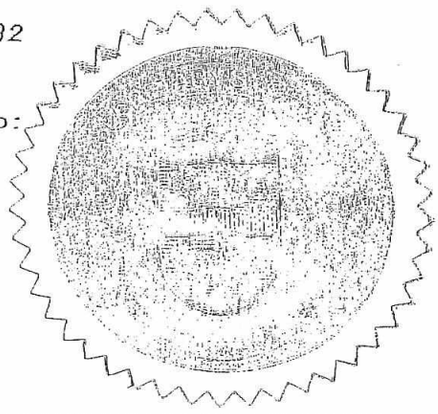
5. at Dover, Delaware

6. the seventh day of October, A.D. 2005

7. by Secretary of State, Delaware Department of State

8. No. 0265282

9. Seal/Stamp:



10. Signature:

Harriet Smith Windsor

Secretary of State

Delaware

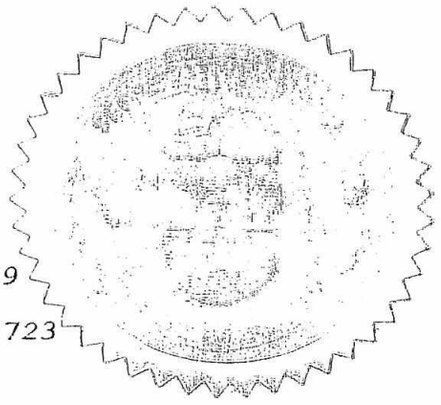
The First State

I, HARRIET SMITH WINDSOR, SECRETARY OF STATE OF THE STATE OF DELAWARE, DO HEREBY CERTIFY "GENENTECH, INC." IS DULY INCORPORATED UNDER THE LAWS OF THE STATE OF DELAWARE AND IS IN GOOD STANDING AND HAS A LEGAL CORPORATE EXISTENCE SO FAR AS THE RECORDS OF THIS OFFICE SHOW, AS OF THE SEVENTH DAY OF OCTOBER, A.D. 2005.

AND I DO HEREBY FURTHER CERTIFY THAT THE SAID "GENENTECH, INC." WAS INCORPORATED ON THE TWENTY-THIRD DAY OF DECEMBER, A.D. 1986.

AND I DO HEREBY FURTHER CERTIFY THAT THE ANNUAL REPORTS HAVE BEEN FILED TO DATE.

AND I DO HEREBY FURTHER CERTIFY THAT THE FRANCHISE TAXES HAVE BEEN PAID TO DATE.



Harriet Smith Windsor

Harriet Smith Windsor, Secretary of State

2112549

050823723

AUTHENTICATION: 4212779

DATE: 10-07-05

Apostille

(Convention de La Haye du 5 Octobre 1961)

1. Country: United States of America

This public document:

2. has been signed by Harriet Smith Windsor

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

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

Certified

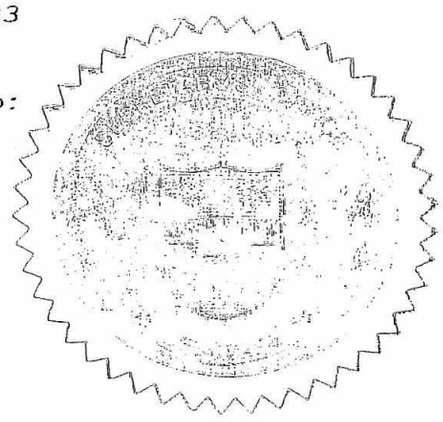
5. at Dover, Delaware

6. the seventh day of October, A.D. 2005

7. by Secretary of State, Delaware Department of State

8. No. 0265283

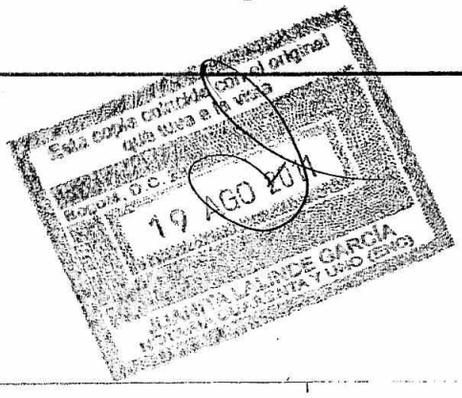
9. Seal/Stamp:



10. Signature:

Harriet Smith Windsor

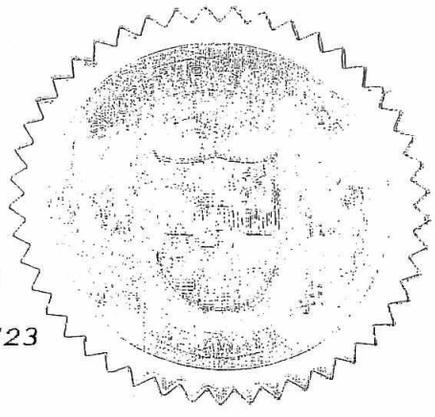
Secretary of State



Delaware

The First State

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



Harriet Smith Windsor

Harriet Smith Windsor, Secretary of State

2112549

AUTHENTICATION: 4212780

050823723

DATE: 10-07-05

AMENDED AND RESTATED

CERTIFICATE OF INCORPORATION

GENENTECH, INC.

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

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

ARTICLE 1

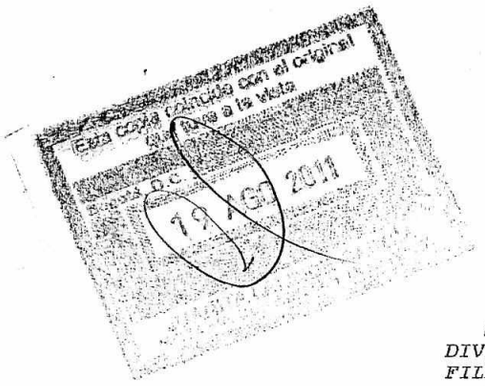
The name of the Corporation is: Genentech, Inc.

ARTICLE 2

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

ARTICLE 3

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



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

ARTICLE 4

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

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

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

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

SECTION 4.03. *Preferred Stock.*

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

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

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

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

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

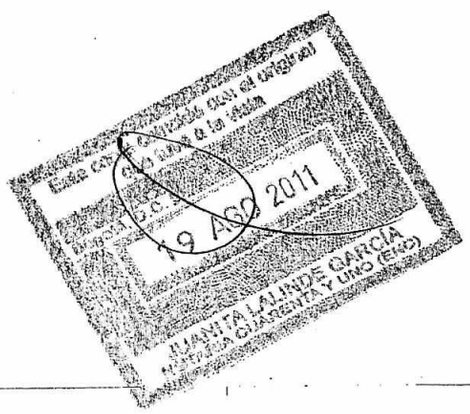
(iv) whether such series shall have conversion privileges and, if so, the terms and conditions of such conversion, including, but not limited to, provision for adjustment of the conversion rate upon such events and in such manner as the Board of Directors shall determine;

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

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

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

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



ARTICLE 5

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

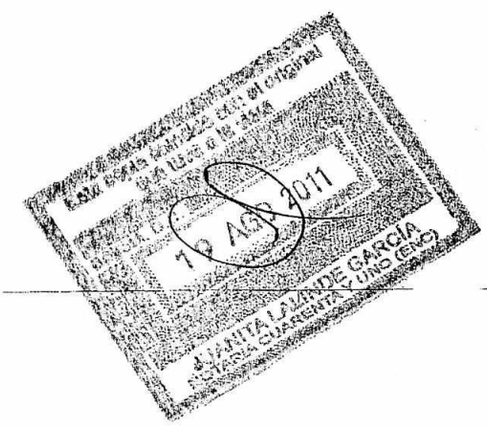
(b) Sections 2.02, 3.02, 3.03(a), 3.03(b), 3.04, 3.05, 3.14, and 5.06 of the bylaws may only be altered, amended, repealed, or rescinded by the affirmative vote of holders of capital stock entitled to vote thereon representing more than 60% of the shares entitled to be voted thereon.

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

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

ARTICLE 6

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



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

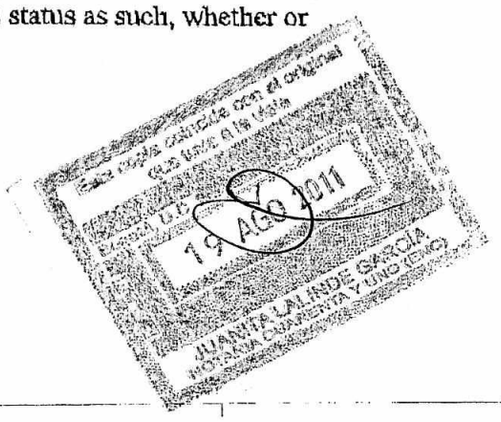
SECTION 6.02. *Ballots*. Elections of directors at an annual or special meeting of stockholders need not be by written ballot unless the bylaws of the Corporation shall provide otherwise.

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

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

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

(d) The Corporation shall have power to purchase and maintain insurance on behalf of any person who is or was a director, officer, employee or agent of the Corporation, or is or was serving at the request of the Corporation as a director, officer, employee or agent of another corporation, partnership, joint venture, trust or other enterprise against any expense, liability or loss incurred by such person in any such capacity or arising out of his status as such, whether or



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

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

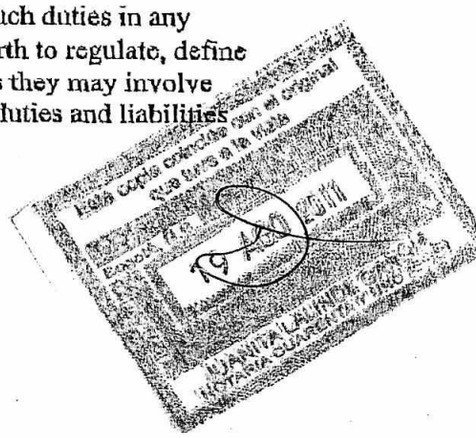
(f) Neither the alteration, amendment, repeal or recission of this Section 6.03, nor the adoption of any provision of this Certificate of Incorporation or the bylaws of the Corporation, nor, to the fullest extent permitted by Delaware Law, any modification of law, shall eliminate or reduce the effect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

ARTICLE 7

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

ARTICLE 8

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



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

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

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

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

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

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

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

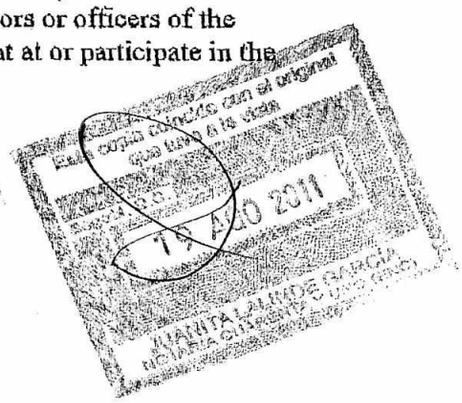
SECTION 8.05. *Definitions.* For purposes of this Article 8 and Article 9 only, (i) the term **"Corporation"** shall mean the Corporation and all corporations, partnerships, joint ventures, associations and other entities in which the Corporation beneficially owns (directly or indirectly) fifty percent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

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

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

ARTICLE 9

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



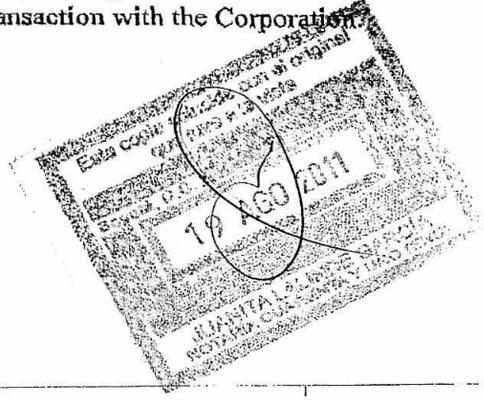
meeting of the Board of Directors or committee thereof which authorizes the contract, agreement, arrangement, transaction, amendment, modification or termination or solely because his or their votes are counted for such purpose, but any such contract, agreement, arrangement or transaction (or any amendment,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

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

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

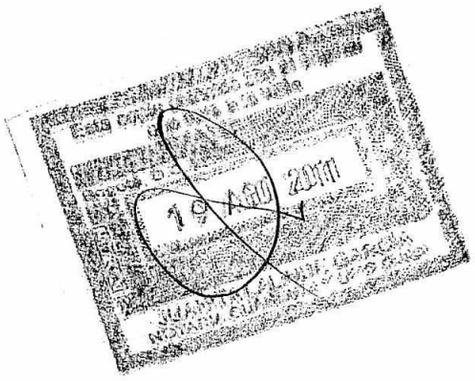
SECTION 9.04. *Deemed Consent by Stockholders.* Any person or entity purchasing or otherwise acquiring any interest in any shares of capital stock of the Corporation shall be deemed to have notice of and to have consented to the provisions of this Article 9.

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



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

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



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

GENENTECH, INC.

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

(4)

Apostille

(Convention de La Haye du 5 Octobre 1961)

1. Country: United States of America

This public document:

2. has been signed by Harriet Smith Windsor

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

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

Certified

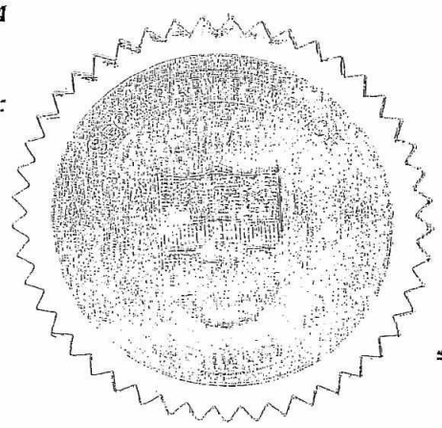
5. at Dover, Delaware

6. the seventh day of October, A.D. 2005

7. by Secretary of State, Delaware Department of State

8. No. 0265284

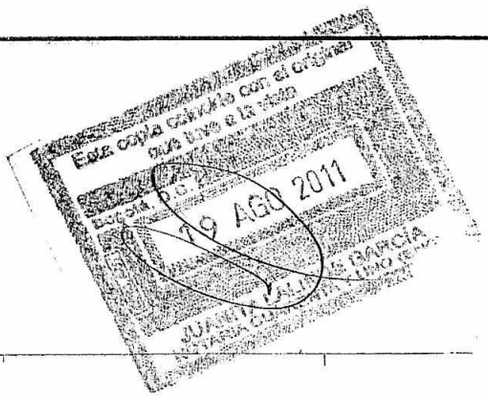
9. Seal/Stamp:



10. Signature:

Harriet Smith Windsor

Secretary of State

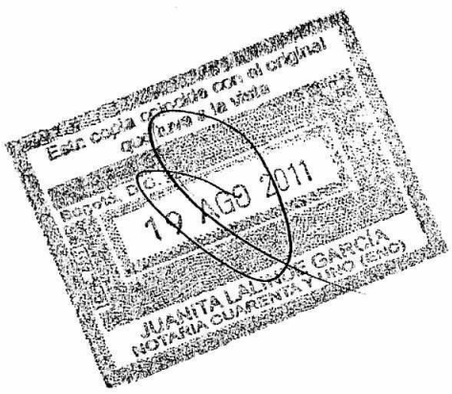


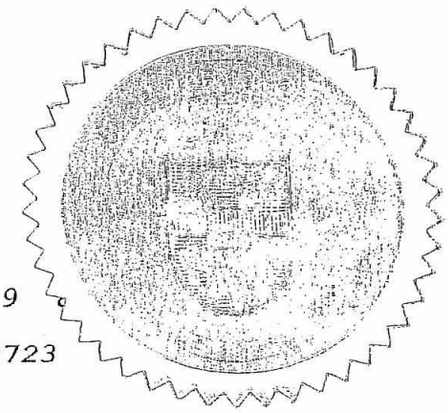
194

Delaware

The First State

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





Harriet Smith Windsor

Harriet Smith Windsor, Secretary of State

2112549

050823723

AUTHENTICATION: 4212781

DATE: 10-07-05

STATE OF DELAWARE
SECRETARY OF STATE
DIVISION OF CORPORATIONS
FILED 05:00 PM 05/15/2000
001245251 – 2112549

CERTIFICATE OF AMENDMENT OF AMENDED AND RESTATED CERTIFICATE OF INCORPORATION

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

DOES HEREBY CERTIFY:

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

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

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

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

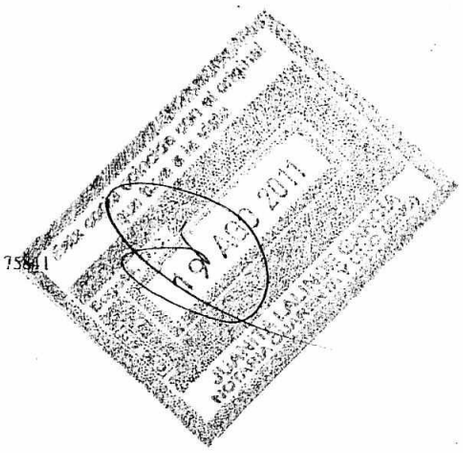
THIRD: That said amendment was duly adopted in accordance with the provisions of Section 242 of the General Corporation Law of the State of Delaware.

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

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

GENENTECH, INC.

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



(3)

Apostille

(Convention de La Haye du 5 Octobre 1961)

1. Country: United States of America

This public document:

2. has been signed by Harriet Smith Windsor

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

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

Certified

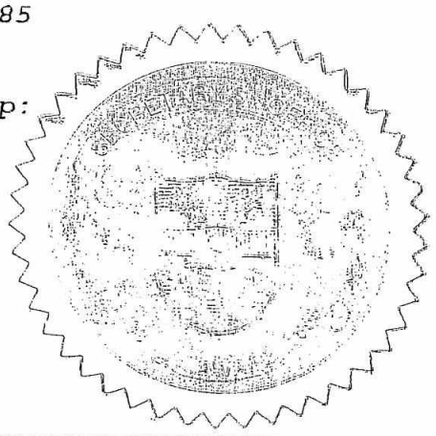
5. at Dover, Delaware

6. the seventh day of October, A.D. 2005

7. by Secretary of State, Delaware Department of State

8. No. 0265285

9. Seal/Stamp:



10. Signature:

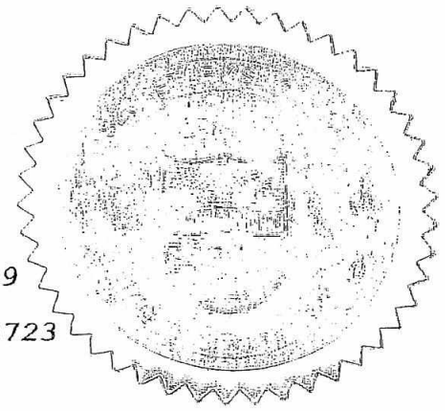
Harriet Smith Windsor

Secretary of State

Delaware

The First State

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



2112549

050823723

Harriet Smith Windsor

Harriet Smith Windsor, Secretary of State

AUTHENTICATION: 4212782

DATE: 10-07-05

STATE OF DELAWARE
SECRETARY OF STATE
DIVISION OF CORPORATIONS
FILED 02:05 PM 05/10/2001
010226224 - 2112549

S ////STATE/OF/DELAWARE///// V
T ///SECRETARY/OF/STATE///// O
A DIVISION/OF/CORPORATIONS// I
M FILED/09:00/AM/05/10/2001/ D
P ///010226224//2112549////
BY Sandy Miller

CERTIFICATE OF AMENDMENT OF AMENDED AND RESTATED CERTIFICATE OF INCORPORATION

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

DOES HEREBY CERTIFY:

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

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

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

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

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

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

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

GENENTECH, INC.

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

80747

Esta copia coincide con el original
19 AGO 2011
JUANITA LAURITE GARCIA
NOTARIA SUPERNUMERARIA

(6)

Apostille

(Convention de La Haye du 5 Octobre 1961)

1. Country: United States of America

This public document:

2. has been signed by Harriet Smith Windsor

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

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

Certified

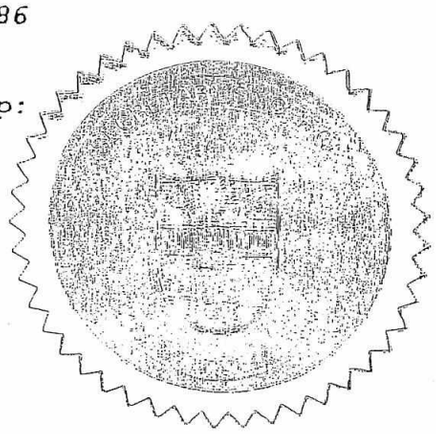
5. at Dover, Delaware

6. the seventh day of October, A.D. 2005

7. by Secretary of State, Delaware Department of State

8. No. 0265286

9. Seal/Stamp:



10. Signature:

Harriet Smith Windsor

Secretary of State

Delaware

The First State

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

2112549

050823723

Harriet Smith Windsor

Harriet Smith Windsor, Secretary of State

AUTHENTICATION: 4212783

DATE: 10-07-05

State of Delaware
Secretary of State
Division of Corporations
Delivered 07:44 PM 04/16/2004
FILED 07:39 PM 04/16/2004
SRV 040281669 - 2112549 FILE

CERTIFICATE OF THIRD AMENDMENT OF AMENDED AND RESTATED CERTIFICATE OF INCORPORATION

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

DOES HEREBY CERTIFY:

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

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

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

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

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

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

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

GENENTECH, INC.

By: _____

Name: Stephen G. Juelsgaard

Title: Executive Vice President, General Counsel and Secretary

#153087