SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 14-011137- -00000-0000
Fecha: 2014-01-21 16:22:59 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 379 FASENACIONALII
Act. 411 PRESENTACION Folios: 4

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

SOLICITUD
PATENTE DE INVENCIÓN

21. EXPEDIENTE No. _____

54. TÍTULO **"PROTEINAS DE UNION A ANTIGENO DE TNF-ALFA CON UNION A FcRn INCREMENTADA"**

51. CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL **C07K 16/24**

71. SOLICITANTE **GLAXO GROUP LIMITED.**

DOMICILIO MIDDLESEX, INGLATERRA.

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

22. BOGOTÁ, D.C. 21 ENE 2014

(FORMA P 10)

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 14-011137- -00000-0000
Fecha: 2014-01-21 16:22:59 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 379 FASENACIONALII
Act. 411 PRESENTACION Folios: 4

DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES
SOLICITUD FASE NACIONAL–PCT

1	(12) TIPO DE SOLICITUD	☒ Patente de invención ☐ Capítulo I	☐ Patente de Modelo de Utilidad ☒ Capitulo II

2 DATOS SOLICITUD INTERNACIONAL PCT (86)

Solicitud Internacional No.	PCT/EP2012/064129	Fecha	19/07/12
Publicación Internacional No.	WO 2013/011076 A2	Fecha	24/01/13

3 (54) TÍTULO DE LA INVENCIÓN:

"PROTEINAS DE UNION A ANTIGENO DE TNF-ALFA CON UNION A FcRn INCREMENTADA"

4 CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL (51) CIP

C07K 16/24

5 (71) SOLICITANTE (S) ☐ Esta persona también es inventor. Para datos adicionales utilizar hoja de información complementaria

APELLIDOS O RAZÓN SOCIAL	NOMBRE	IDENTIFICACIÓN	TIPO
4. GLAXO GROUP LIMITED			

6 DATOS DEL SOLICITANTE

DIRECCIÓN	980 Great West Road, Brentford, Middlesex TW8 9GS, Inglaterra.	No. TELÉFONO	3264270
CIUDAD	Middlesex	E-MAIL	notificacionespatentes@lloredacamacho.com
DEPARTAMENTO/ESTADO		NACIONALIDAD O LUGAR DE CONSTITUCIÓN	Inglaterra y Gales.
PAÍS DE RESIDENCIA	Inglaterra.		

7 (72) INVENTOR (ES) Para datos adicionales utilizar hoja de información complementaria

APELLIDOS	NOMBRES	NACIONALIDAD
1. ELLIS	Jonathan, Henry	Reino Unido
2. MOLLOY	Michael, J	Irlanda
3. SHAH	Tejash	India
4. TOMLINSON	Ian, M	Reino Unido
5. YASIN	Ahmed	Reino Unido

DIRECCIÓN DE CORREO ELECTRÓNICO: notificacionespatentes@lloredacamacho.com

8 DATOS INVENTOR (ES)

PAÍS RESIDENCIA	DEPARTAMENTO/ ESTADO	CIUDAD	DIRECCIÓN
Reino Unido		Hertfordshire	GlaxoSmithkline, Grunnels Wood Road, Stevenage, Hertfordshire SG1 2NY, Reino Unido.

OTRO(S) SOLICITANTE(S) Y/O (OTRO(S)) INVENTOR(ES)

☐ Los demás solicitantes y/o (demás) inventores se indican en una hoja a continuación.

9 (74) ☒ **REPRESENTANTE** ☒ **APODERADO**

APELLIDOS	NOMBRES	IDENTIFICACIÓN
LLOREDA RICAURTE	ALICIA	C.C 39.690.713 T.P .53.215

DIRECCIÓN	Calle 72 No 5-83 Piso 5to	No. TELÉFONO	3264270
CIUDAD	Bogotá	E-MAIL	notificacionespatentes@lloredacamacho.com
PAÍS	Colombia	No. DE PROTOCOLO EN LA OFICINA	

ng.

10	(30) DECLARACIONES DE PRIORIDAD ☒ SI ☐ NO			
	(33) PAÍS DE ORIGEN	CÓDIGO PAÍS	(31) NÚMERO	(32) FECHA (AAAA/MM/DD)
	1. Reino Unido	GB	1112429.4	11/07/19

11 DECLARACIÓN SOBRE USO DE RECURSOS GENÉTICOS O BIOLÓGICOS

Declaro que el objeto de la presente solicitud de patente fue obtenido a partir de recursos genéticos o biológicos de los que cualquiera de los países miembros de la Comunidad Andina es país de origen.

☐ SI ☒ NO

Nota: En caso afirmativo deberá anexar copia del contrato de acceso de recursos genéticos o productos derivados, o certificado o número de registro, expedido por la Autoridad competente.

12 DECLARACIÓN SOBRE USO DE CONOCIMIENTOS TRADICIONALES

Declaro que el objeto de la presente solicitud de patente fue obtenido a partir de conocimientos tradicionales de comunidades indígenas, afroamericanas o locales de países miembros de la Comunidad Andina.

☐ SI ☒ NO

Nota: En caso afirmativo deberá anexar la licencia o autorización de uso de conocimiento tradicional, o certificado, o número de registro expedido por la Autoridad competente.

13 REDUCCIÓN DE TASAS

Declaro que carezco de medios económicos para presentar la solicitud de patente.

☐ SI ☒ NO

Nota: En caso de ser persona natural y carecer de medios económicos, y por lo tanto, aplique la reducción de tasas a que se refiere la resolución vigente en tarifas, debe firmar la presente solicitud bajo la gravedad de juramento.

Micro, pequeñas y medianas empresas	Universidades públicas o privadas	Entidades sin ánimo de lucro
☐ Copia simple de la declaración de renta del año inmediatamente anterior, o en su defecto prueba documental idónea. ☐ Documento de constancia de cumplimiento con lo establecido en la ley 905 de 2004.	☐ Copia acto de reconocimiento institucional emitido por el Ministerio de Educación. Acreditación Colciencias.	☐ Copia de registro vigente en Cámara de comercio. ☐ Hoja de información complementaria. ☐ Otros, especificar

14 AUTORIZACIÓN DE NOTIFICACIÓN EN LÍNEA ☒ SI ☐ NO

Manifiesto que he leído y entendido perfectamente los términos y condiciones de uso de medios electrónicos para las notificaciones en línea a través de Internet de los actos administrativos proferidos por la Superintendencia de Industria y Comercio que deben ser notificados personalmente y, en consecuencia, autorizo el servicio de notificación a través de internet.

14 COMPROBANTE DE PAGO O PAGO ELECTRÓNICO N° 14-006051 **Fecha** 20-01-2014

15 FIRMA DEL SOLICITANTE, DEL APODERADO O DEL REPRESENTANTE LEGAL

Junto a cada firma, indicar el nombre del firmante y su calidad (si tal calidad no es obvia al leer el petitorio)

ALICIA LLOREDA RICAURTE Representante

C.C. 39.690.713 T.P. 53.215 Apoderado

16 ORDEN Y RELACIÓN DE DOCUMENTOS QUE ACOMPAÑAN LA SOLICITUD

Documentación Técnica
Solicitud Internacional en castellano

1. ☒ Descripción N° de folios: 122
2. ☒ Reivindicaciones N° Reivindicaciones: 24
3. ☒ Dibujos y/o figuras N° folios: 6
4. ☒ Resumen.
5. ☐ Certificado de depósito de material biológico si fuera el caso.
6. ☒ Listado de secuencias de nucleótidos y/o aminoácidos en forma digital si fuera el caso.
7. ☐ Arte final 12 x 12.
8. ☒ Anexo formato digital.

Documentación Jurídica

9. ☒ Poderes, si fuera el caso.
10. ☒ Documento que legalmente pruebe la cesión del inventor al solicitante o a su causante.
11. ☐ Copia del contrato de acceso de recursos genéticos o productos derivados, certificado o número de registro, si fuera el caso.
12. ☐ Copia de la licencia o autorización de Conocimientos Tradicionales, certificado o número de registro, si fuera el caso.
13. ☒ Documento que acredita la existencia y representación legal, cuando el solicitante es persona jurídica.
14. ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud.
15. ☐ Comprobante de pago por reivindicación de prioridad.
16. ☐ Comprobante de pago de la tasa por concepto de excedente de palabras en la publicación.
17. ☐ Comprobante de pago por reivindicación adicional de

VER ANEXO CD

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

PLANILLA DE RADICACIÓN - DIGITALIZACIÓN DIARIA
RELACIÓN DE ANEXOS

Dependencia: 2020	Fecha: 2014 / 01 / 21 (AAAA MM DD) 2014	Recorrido:

Tipo de Radicación: Entrada: X Salida: ☐ Traslado: ☐ Convenio: ☐

Radicador: | Planilla:

ID	No. Radicación	Consecutivo	Item
1	14-11137	0	7
2			
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:
Folio #3 es CD.
El CD ANEXO Contiene un total de 13 Archivo:
13 Archivos en formato pDF los cuales
fueron procesados.

Yenny

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

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

RECIBO DE CAJA

No. 14 - 006051

Bogotá D.C., Enero 20 de 2014 - 16:40:20

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

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR PAGO
RECIBO DE CA	999999999	5545	20/01/2014		3.971.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr.UNDITARIO	Vr.CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE INVENCION	515.000.00	515.000.00
				$515.000.00

SON: **QUINIENTOSQUINCE MIL PESOS MONEDA CORRIENTE***

Responsable: _____

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

No. 14-011137- -00000-0000

Fecha: 2014-01-21 16:22:59 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 379 FASENACIONALII
Act. 411 PRESENTACION Folios: 4

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 14-011137- -00000-0000
Fecha: 2014-01-21 16:22:59 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 379 FASENACIONALII
Act. 411 PRESENTACION Folios: 4

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

LISTA DE CHEQUEO
ADMISIÓN A TRÁMITE – NUEVAS CREACIONES

PATENTE DE INVENCIÓN ☐ **MODELO DE UTILIDAD** ☐ **Art 33 Decisión 486/00**

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

Completa ☐ Incompleta ☐

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

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

Completa ☒ Incompleta ☐

DISEÑO INDUSTRIAL ☐ **(Art. 119 Decisión 486/00)**

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

Completa ☐ Incompleta ☐

ESQUEMA DE TRAZADO ☐ **(Art. 92 Decisión 486/00)**

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

Completa ☐ Incompleta ☐

MODIFICACIONES A LAS REIVINDICACIONES PRESENTADAS EN FASE INTERNACIONAL

(INDICADAS EN EL REPORTE PRELIMINAR SOBRE PATENTABILIDAD)

Atentamente me permito informar a ese Despacho que el Capítulo Reivindicatorio tal como fue presentado originalmente en Fase Internacional fue modificado en dicha instancia bajo el Reporte Preliminar Internacional sobre Patentabilidad.

Las modificaciones realizadas se encuentran plenamente sustentadas en la descripción de la presente invención y en este sentido, no configuran una ampliación del invento o de la divulgación contenida en la solicitud presentada.

PROTEINAS DE UNION A ANTIGENO DE TNF-ALFA CON UNION A FcRn INCREMENTADA

RESUMEN-OBJETO Y FINALIDAD DE LA INVENCIÓN

La presente invención provee proteínas de unión a antígeno que se unen específicamente a TNF-alfa. Por ejemplo variantes novedosas de anticuerpos anti-TNF, tal como adalimumab las cuales muestran unión incrementada al receptor FcRn o tiempo de vida media incrementado en comparación con adalimumab. También se proveen composiciones que comprenden las proteínas de unión a antígeno y los usos de dichas composiciones en el tratamiento de trastornos y enfermedad.

SECTOR: Química farmacéutica. Una proteína de unión a antígeno que se une específicamente a TNF-alfa.

PROTEINAS DE UNION A ANTIGENO DE TNF-ALFA CON UNION A FcRn INCREMENTADA

CAMPO DE LA INVENCION

La invención se refiere a variantes novedosas de anticuerpos anti-TNF.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

Los anticuerpos son glucoproteínas heteromultiméricas que comprenden por lo menos dos cadenas pesadas y dos cadenas ligeras.

Aparte de IgM, los anticuerpos intactos usualmente son glucoproteínas heterotetraméricas de aproximadamente 150 kDa, constituidas por dos cadenas ligeras (L) idénticas y dos cadenas pesadas (H) idénticas. Cada cadena pesada tiene en un extremo un dominio variable (VH) seguido por un número de regiones constantes. Cada cadena ligera tiene un dominio variable (VL) y una región constante en su otro extremo; la región constante de la cadena ligera está alineada con la primera región constante de la cadena pesada y el dominio variable de la cadena ligera está alineado con el dominio variable de la cadena pesada. Dependiendo de la secuencia de aminoácido de la región constante de sus cadenas pesadas, los anticuerpos humanos pueden asignarse a cinco clases diferentes, IgA, IgD, IgE, IgG e IgM. IgG e IgA pueden subdividirse adicionalmente en las subclases, IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4 e IgA1 e IgA2. El dominio variable del anticuerpo confiere especificidad de unión al anticuerpo con ciertas regiones que despliegan variabilidad particular denominadas regiones determinantes de complementariedad (CDRs). Las porciones más conservadas de la región variable se denominan regiones de estructura base (FR). Los dominios variables de las cadenas pesada y ligera intactas comprenden cada uno cuatro FR conectadas por tres CDRs. Las regiones constantes no están implicadas directamente en la unión del anticuerpo al antígeno, pero presentan diversas funciones efectoras tales como participación en la citotoxicidad mediada por célula dependiente de anticuerpo (ADCC), fagocitosis mediante unión al receptor Fcγ, tiempo de vida media/velocidad de depuración a través del receptor de Fc neonatal (FcRn) y citotoxicidad dependiente del complemento a través del componente C1q de la cascada del complemento. La naturaleza de la estructura de un anticuerpo de IgG es tal que existen dos sitios de unión a

antígeno, de los cuales ambos son específicos para el mismo epítope. Estos son, por lo tanto, monoespecíficos.

En los mamíferos adultos, FcRn, también conocido como el receptor de Fc neonatal, desempeña un papel clave en el mantenimiento de los niveles de anticuerpos en suero actuando como un receptor protector que se une a y rescata los anticuerpos del isotipo IgG de la degradación. Las moléculas de IgG son sometidas a endocitosis por las células endoteliales, y si éstas se unen a FcRn, son recicladas hacia afuera hacia la circulación. En contraste, las moléculas de IgG que no se unen a FcRn entran en las células y son dirigidas hacia la ruta lisosómica en donde éstas son degradadas.

Se cree que el receptor FcRn neonatal está implicado tanto en la depuración de anticuerpo como en la transcitosis a través de los tejidos (véase Junghans R.P (1997) Immunol. Res. 16. 29-57 y Ghetie et al (2000) Annu.Rev.Immunol.18, 739-766).

El documento WO 9734631 describe una composición que comprende una molécula de IgG mutante que tiene tiempo de vida media incrementado en suero y por lo menos una sustitución de aminoácido en la región de gozne de Fc. Se describe la sustitución de aminoácido en uno o más de los aminoácidos seleccionados a partir de los números 252, 254, 256, 309, 311 ó 315 en el dominio CH2 ó 433 ó 434 en el dominio CH3.

El documento WO 00/42072 describe un polipéptido que comprende una región Fc variante con afinidad de unión a FcRn alterada, cuyo polipéptido comprende una modificación de aminoácido en cualquiera de una o más o más de las posiciones de aminoácido 238, 252, 253, 254, 255, 256, 265, 272, 286, 288, 303, 305, 307, 309, 311, 312, 317, 340, 356, 360, 362, 376, 378, 380, 386, 388, 400, 413, 415, 424, 433, 434, 435, 436, 439 y 447 de la región Fc.

El documento WO 02/060919 describe una IgG modificada que comprende un dominio constante de IgG que comprende las modificaciones de aminoácido en una o más posiciones de las posiciones 251, 253, 255, 285-290, 308-314, 385-389 y 428-435.

El documento WO2004035752 describe un anticuerpo modificado de clase IgG en el cual por lo menos un residuo de aminoácido de la región constante de la cadena pesada que se selecciona a partir del grupo que consiste de los residuos de aminoácido 250, 314 y 428 es diferente de aquel presente en un anticuerpo de clase IgG sin modificar.

Shields et al. (2001, J Biol Chem; 276:6591-604) utilizaron mutagénesis de barrido de alanina para alterar los residuos en la región Fc de un anticuerpo de IgG1 de humano y después evaluaron la unión a FcRn de humano. Las posiciones que efectivamente abrogan la unión a FcRn cuando se cambian a alanina incluyen I253, S254, H435, y Y436. Otras posiciones muestran una reducción menos pronunciada en la unión de la siguiente manera: E233 - G236, R255, K288, L309, S415 y H433. Varias posiciones de aminoácido exhiben una mejoría en la unión a FcRn cuando se cambian a alanina.

Dall'Acqua et al. (2002, J Immunol.; 169:5171-80) describen mutagénesis aleatoria y tamizaje de genotecas de despliegue en fago del fragmento de Fc de gozne de IgG1 de humano contra FcRn de ratón. Ellos describen mutagénesis aleatoria de las posiciones 251, 252, 254-256, 308, 309, 311, 312, 314, 385-387, 389, 428, 433, 434, y 436.

El documento WO2006130834 describe IgG modificada que comprende una IgG que comprende un dominio constante de IgG que comprende modificaciones de aminoácido en una o más de las posiciones de 252, 254, 256, 433, 434 y 436.

Por lo tanto, la modificación de los dominios Fc de los anticuerpos de IgG se ha discutido como medios para incrementar el tiempo de vida media en suero de anticuerpos terapéuticos. Sin embargo, se han sugerido muchas de dichas modificaciones con resultados variables y algunas veces contradictorios en diferentes anticuerpos.

La administración de proteínas de unión a antígeno como agentes terapéuticos requiere inyecciones con una frecuencia prescrita relacionada con la depuración y tiempo de vida media característicos de la proteína.

El adalimumab es un anticuerpo monoclonal contra TNF-alfa que se utiliza para el tratamiento de la artritis reumatoide, artritis psoriática, la espondilitis anquilosante, y la enfermedad de Crohn `s. Se produce mediante tecnología de ADN recombinante usando un sistema de expresión en células de mamífero. Este consiste de 330 aminoácidos y tiene un peso molecular de aproximadamente 148 kilodaltons. Véase Patente E.U.A. 6,090,382. A dosis de 0.5 mg/kg (~ 40mg), se dice que la depuración de adalimumab varía de 11 a 15 ml/hora, el volumen de distribución (V_{ss}) varía entre 5 a 6 litros y el tiempo de vida media de fase terminal promedio es de aproximadamente de dos semanas (Resumen de características del

producto disponible en www.medicines.org.uk). Estas propiedades de tiempo de vida media y depuración significan que actualmente el adalimumab necesita ser administrado una vez cada dos semanas. En algunos pacientes, dependiendo de la enfermedad podría ser necesario administrar una dosis de carga tal como, por ejemplo, en pacientes con psoriasis. Esta dosis puede ser diferente de la dosis de mantenimiento.

BREVE DESCRIPCION DE LA INVENCION

En un aspecto, la invención se refiere a una proteína de unión a antígeno que se une específicamente a TNF-alfa que comprende CDRH1 (SEQ ID NO: 27), CDRH2 (SEQ ID NO: 28) CDRH3 (SEQ ID NO: 29), CDRL1 (SEQ ID NO: 30), CDRL2 (SEQ ID NO: 31) y CDRL3 (SEQ ID NO: 32) o variantes de los mismos en el que dichas variantes pueden contener 1, 2, 3 ó 4 sustituciones, inserciones o deleciones de aminoácido en comparación con CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2, o CDRL3, y una porción de unión al receptor neonatal de Fc (FcRn) de un dominio constante de IgG1 de humano que comprende uno o más sustituciones de aminoácido con relación al dominio constante de IgG1 de humano, en el cual la proteína de unión a antígeno tiene una afinidad de unión a FcRn incrementada a pH 6 y/o tiempo de vida media incrementado en comparación con una IgG que comprende la secuencia de la cadena ligera de SEQ ID NO: 2 y la secuencia de la cadena pesada de SEQ ID NO: 12.

A través de toda la descripción, el término "dominio constante de IgG1 de humano" abarca todos los alotipos y variantes de los mismos conocidos por una persona experta en la técnica.

En un aspecto, la invención se refiere a una proteína de unión a antígeno que se une específicamente a TNF-alfa que comprende CDRH1 (SEQ ID NO: 27), CDRH2 (SEQ ID NO: 28), CDRH3 (SEQ ID NO: 29), CDRL1 (SE1 ID NO: 30), CDRL2 (SEQ ID NO: 31), y CDRL3 (SEQ ID NO: 32) o variantes de las mismas en las cuales dichas variantes pueden contener 1, 2, 3, ó 4 substituciones, inserciones o deleciones de aminoácido en comparación con CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 o CDRL3; y una porción de unión a receptor neonatal de Fc (FcRn) de un dominio constante de IgG1 de humano que comprende una o más sustituciones de aminoácidos con relación al dominio constante de IgG1 de humano, en el cual la proteína de unión a antígeno tiene un tiempo de vida medio

incrementado en comparación con una IgG que comprende la secuencia de la cadena ligera de SEQ ID NO 2 y la secuencia de la cadena pesada de SEQ ID NO.12 y la proteína de unión a antígeno se puede administrar no más de una vez cada cuatro semanas para lograr una concentración media mínima en estado constante como la lograda por la misma dosis de IgG que comprende la secuencia de la cadena ligera de SEQ ID NO.2 y la secuencia de la cadena pesada de SEQ ID No.12 administrada una vez cada dos semanas.

En un aspecto, la invención se refiere a una proteína de unión a antígeno que se une específicamente a TNF-alfa que comprende CDRH1 (SEQ ID NO: 27), CDRH2 (SEQ ID NO: 28), CDRH3 (SEQ ID NO: 29), CDRL1 (SEQ ID NO: 30), CDRL2 (SEQ ID NO: 31), y CDRL3 (SEQ ID NO: 32) o variantes de las mismas en las cuales dichas variantes pueden contener 1, 2, 3, ó 4 sustituciones, inserciones o deleciones de aminoácido en comparación con CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2, o CDRL3, y una porción de unión a FcRn de un dominio constante de IgG1 de humano que comprende uno más sustituciones de aminoácido con relación al dominio constante de IgG1 de humano, en la cual la proteína de unión a antígeno tiene una afinidad para FcRn de 2 veces, o 3 veces o 4 veces o 5 veces, o 6 veces u 8 veces o mayor que la de una proteína de unión a antígeno anti-TNF con las mismas CDRs sin dichas modificaciones a pH 6 según se evalúa mediante el sistema de arreglo de interacción de proteína ProteOn XPR36 a 25ºC, el sistema de arreglo tiene proteínas de unión a antígeno inmovilizadas en el chip.

En un aspecto, la invención se refiere a una proteína de unión a antígeno la cual es una variante de una IgG que comprende la secuencia de la cadena ligera de SEQ ID No. 2 y la secuencia de la cadena pesada de SEQ ID No.12. en la cual la variante de la proteína de unión a antígeno comprende una o más sustituciones en la porción de unión al receptor neonatal de Fc (FcRn) del dominio constante de IgG para incrementar el tiempo de vida media de la variante de la proteína de unión a antígeno en comparación con la IgG sin dichas sustituciones, en la cual cuando la variante se administra a los pacientes en una sola dosis de 40 mg a un intervalo de cuatro a ocho semanas, la concentración media mínima en estado constante en la población de pacientes no cae por debajo de 4 µg/ml o no cae por debajo de 5 µg/ml entre los intervalos de dosificación. De preferencia, la concentración media mínima de anticuerpo en suero en la

población de pacientes no cae por debajo de 6 µg/ml entre los intervalos de dosificación, De preferencia, la concentración media mínima de anticuerpo en suero en la población de pacientes no cae por debajo de 5 µg/ml entre los intervalos de dosificación cuando la variante se administra a los pacientes en una sola dosis de 40 mg a un intervalo de ocho semanas. De preferencia, la concentración media mínima de anticuerpo en suero en la población de pacientes no cae por debajo de 4 µg/ml entre los intervalos de dosificación al tiempo que sigue proveyendo la eficacia óptima cuando la variante se administra a los pacientes en una sola dosis de 40 mg a un intervalo de ocho semanas. De preferencia, la concentración media mínima de anticuerpo en suero en la población de pacientes no cae por debajo de 3 µg/ml entre los intervalos de dosificación al tiempo que sigue proveyendo la eficacia óptima cuando la variante se administra a los pacientes en una sola dosis de 40 mg a un intervalo de ocho semanas.

En un aspecto, la invención se refiere a una proteína de unión a antígeno como se describe en la presente solicitud para el tratamiento de una enfermedad en el cual la proteína de unión a antígeno se puede administrar a los pacientes no más de una vez cada cuatro semanas para lograr una concentración media mínima en estado constante comparable con la lograda por la misma dosis de una IgG que comprende la secuencia de la cadena ligera de SEQ ID No. 2 y la secuencia de la cadena pesada de SEQ ID No. 12 administrada una vez cada dos semanas.

En un aspecto, la invención se refiere a un método para tratar un paciente con una enfermedad, el método comprende administrar una proteína de unión a antígeno de conformidad con la invención.

En un aspecto, la invención se refiere a una secuencia de ácido nucleico que codifica para la proteína de unión a antígeno de conformidad con la invención, o una parte de la misma tal como una cadena pesada o cadena ligera. En un aspecto, la invención se refiere a un vector de expresión que codifica para la proteína de unión a antígeno de conformidad con la invención, o una parte de la misma tal como una cadena pesada o cadena ligera.

En un aspecto, la invención se refiere a una célula hospedera que comprende la secuencia de ácido nucleico que codifica para la proteína de unión a antígeno de conformidad con la invención. En un aspecto, la invención se refiere a una proteína de unión a antígeno de conformidad con la invención para uso en el tratamiento de psoriasis o artritis reumatoide.

En un aspecto, la invención se refiere a un kit que comprende la proteína de unión a antígeno de conformidad con la invención, y que comprende opcionalmente metotrexato para el suministro concomitante de la proteína de unión a antígeno de conformidad con la invención y metotrexato.

En un aspecto, la invención se refiere a una proteína de unión a antígeno como se describe en la presente solicitud para el tratamiento de artritis reumatoide en un individuo que ya está siendo tratado con metotrexato, y a una proteína de unión a antígeno en combinación con metotrexato para el tratamiento de artritis reumatoide, en el cual la combinación se suministra simultáneamente, en forma sustancialmente simultánea, o en forma secuencial.

En un aspecto, la invención se refiere a una proteína de unión a antígeno como se describe en la presente solicitud para el tratamiento de psoriasis en un individuo que ya está siendo tratado con metotrexato y a una proteína de unión a antígeno en combinación con metotrexato para el tratamiento de psoriasis, en el cual la combinación se suministra simultáneamente, en forma substancialmente simultánea, o en forma secuencial.

BREVE DESCRIPCION DE LAS FIGURAS

Figura 1 - Unión de anticuerpos anti-TNFα a TNFα de humano.

Figura 2 - Análisis de la actividad de unión de los anticuerpos anti-TNFα a TNFα de humano después de un estudio de tensionante (stressor) acelerado.

Figura 3 - Unión de anticuerpos anti-TNFα a TNFα de humano después de la incubación en suero de humano al 25% durante 2 semanas.

Figura 4 - Unión de anticuerpos anti-TNFα a TNFα de humano después de la congelación-descongelación.

Figuras 5a-5b - Análisis de anticuerpos anti-TNFα para los receptores FcγRIIIa (Figura 5a) Unión a FcγRIIIa de humano (variante valina 158), (Figura 5b) Unión a FCγRIIIA de humano (variante fenilalanina 158).

Figura 6 - Concentraciones en plasma normalizadas de dosis promedio de BPC2604 en monos cynomolgus de género femenino y pascolizumab en monos cynomolgus de género masculino después de una sola administración intravenosa (infusión de 1 hora).

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCIÓN

La invención se refiere a proteínas de unión a antígeno novedosas que se unen específicamente a TNF-alfa. En particular, la invención se refiere a variantes novedosas de anticuerpos anti-TNF, tal como adalimumab los cuales muestran unión incrementada al receptor FcRn y/o tiempo de vida medio incrementado en comparación con adalimumab. Adalimumab es un anticuerpo monoclonal de IgG que comprende la secuencia de la cadena ligera de SEQ ID No. 2 y la secuencia de la cadena pesada de SEQ ID No. 12.

Los inventores han descubierto que las modificaciones específicas al adalimumab como se describe en la presente solicitud muestran mejoras particulares en la unión a FcRn como se muestra en los ejemplos más adelante. Las variantes maduradas por afinidad de adalimumab también muestran una mejora en la unión a anti-TNF-alfa y/o actividad de neutralización. Las proteínas de unión a antígeno novedosas de la invención tienen una unión incrementada al receptor FcRn y/o tiempo de vida media incrementado y/o tiempo medio de residencia incrementado y/o depuración disminuida. Se considera que la unión a FcRn da como resultado retención en suero más larga *in vivo*. Con el fin de incrementar la retención de las proteínas Fc *in vivo*, el incremento en la afinidad de unión se observa alrededor de pH 6. En un aspecto, la presente invención provee por lo tanto una proteína de unión a antígeno con unión a FcRn optimizada.

En una modalidad, el tiempo de vida media de la proteína de unión a antígeno de la presente invención se incrementa de 2 a 6 veces, tal como 2 veces, 3 veces, 4 veces, 5 veces o 6 veces en comparación con una IgG que comprende la secuencia de la cadena ligera de SEQ ID No. 2 y la secuencia de la cadena pesada de SEQ ID No. 12. De preferencia, el tiempo de vida media de la proteína de unión a antígeno de la invención se incrementa 3 veces, 4 veces o más en comparación con una IgG que comprende la secuencia de la cadena ligera de SEQ ID No. 2 y la secuencia de la cadena pesada de SEQ ID No.12. Por ejemplo, si la IgG es adalimumab que tiene un tiempo de vida media de 10 días o en el intervalo de 10 a 20 días, entonces en una modalidad, una proteína de unión a antígeno de la presente invención muestra un tiempo de vida media de aproximadamente 40 a 80 días. Por ejemplo, una proteína de unión a

antígeno que comprende una secuencia de la cadena pesada que se selecciona a partir de SEQ ID NO:5 o SEQ ID NO:9 o SEQ ID NO:15 o SEQ ID NO:18, o SEQ ID NO:21, o SEQ ID NO:24 o SEQ ID NO:163, o SEQ ID NO:165, o SEQ ID NO:167, o SEQ ID NO:169.

En una modalidad, la proteína de unión a antígeno de la invención administrada no más de una vez cada cuatro semanas en los pacientes, logra concentraciones medias mínimas en estado constante entre aproximadamente 2 µg/ml hasta aproximadamente 7 µg/ml. De preferencia, las concentraciones medias mínimas en estado constante están entre aproximadamente 4 µg/ml hasta aproximadamente 7 µg/ml y de manera más preferida entre aproximadamente 5 µg/ml hasta aproximadamente 6 µg/ml. En una modalidad, la proteína de unión a antígeno de la invención administrada no más de una vez cada 28 días en los pacientes, logra concentraciones medias mínimas en estado constante entre aproximadamente 2 µg/ml hasta aproximadamente 7 µg/ml. De preferencia, las concentraciones medias mínimas en estado constante están entre aproximadamente 4 µg/ml hasta aproximadamente 7 µg/ml y de manera más preferida entre aproximadamente 5 µg/ml hasta aproximadamente 6 µg/ml. En una modalidad de la invención, la proteína de unión a antígeno de la invención se puede administrar una vez cada 4, 5, 6, 7 u 8 semanas para lograr concentraciones medias mínimas en estado constante comparables con aquellas logradas por adalimumab, cuando se administra una vez cada dos semanas a la misma dosis. En una modalidad preferida de todos los aspectos de la invención, la proteína de unión a antígeno de la invención se puede administrar una vez cada 7 u 8 semanas. En una modalidad de la invención, la proteína de unión a antígeno de la invención se puede administrar una vez cada 25-80 días por ejemplo una vez cada 40-60 días, o por ejemplo una vez cada 28, 35, 42, 49 ó 56 días para lograr concentraciones medias mínimas en estado constante comparables con aquellas logradas por adalimumab, cuando se administra una vez cada 14 días a la misma dosis. En una modalidad de la invención, la proteína de unión a antígeno se puede administrar una vez cada 49 a 60 días, por ejemplo cada 56 días.

En una modalidad de todos los aspectos de la invención, la proteína de unión a antígeno tiene una afinidad de 2 veces, o 4 veces, o 6 veces, u 8 veces o mayor para FcRn de humano a pH 6 según se evalúa mediante el sistema de arreglo de interacción de proteína ProteOn XPR36 a

25ºC en el cual los anticuerpos están inmovilizados en el chip. De preferencia, la proteína de unión a antígeno tiene una afinidad para FcRn de humano entre aproximadamente 100 hasta aproximadamente 500 KD(nM), tal como entre aproximadamente 130 hasta aproximadamente 360 KD(nM) o entre aproximadamente 140 hasta aproximadamente 250KD(nM) o entre aproximadamente 140 hasta aproximadamente 210KD(nM).

En una modalidad, la depuración de la proteína de unión a antígeno es de aproximadamente 2 hasta aproximadamente 10 ml/hr, de preferencia aproximadamente 2 hasta aproximadamente 5 ml/hr ó 2 a 4 ml/hr ó 2 a 3 ml/hr, tal como aproximadamente 2, aproximadamente 2.5, 3, 4 ó 5 ml/hr. En una modalidad la proteína de unión a antígeno de la invención muestra una velocidad de depuración que es 2 veces, 3 veces, 4 veces o 5 veces más baja que adalimumab. En una modalidad, la depuración para una proteína de unión a antígeno de conformidad con la invención está en los intervalos especificados anteriormente o 2 veces, 3 veces, 4 veces o 5 veces más baja que adalimumab a una dosis en humanos de aproximadamente 40 mg.

En un aspecto, la proteína de unión a antígeno de la invención es una variante de adalimumab (IgG que comprende la secuencia de la cadena ligera de SEQ ID No. 2 y la secuencia de la cadena pesada de SEQ ID No.12), la variante comprende una o más sustituciones en la porción de unión a FcRn del dominio constante de IgG para incrementar el tiempo de vida media de la variante comparado con adalimumab, en el cual cuando la variante se administra a los pacientes en una sola dosis de 40 mg en un intervalo de cuatro a ocho semanas, de preferencia intervalo de ocho semanas, la concentración media mínima de anticuerpo en estado constante en la población de pacientes no cae por debajo de 5 µg /ml. En una modalidad la concentración media mínima de anticuerpo en estado constante en la población de pacientes no cae por debajo de 6 µg /ml, entre los intervalos de dosificación.

En una modalidad adicional, la proteína de unión a antígeno comprende por lo menos una modificación de aminoácido en la región Fc de dicha proteína de unión a antígeno, en la cual dicha modificación es en una o más de las posiciones 250, 252, 254, 256, 257, 259, 308, 428 ó 434 de la región Fc en comparación con la misma posición en la secuencia de adalimumab, en la cual la numeración de los aminoácidos en la región Fc es la del índice UE en Kabat.

La IgG1 de tipo silvestre de humano tiene los residuos de aminoácido Val-Leu-His-Gln-Asp-Trp-Leu en las posiciones 308-314, los residuos de aminoácido Leu-Met- Ile-Ser-Arg-Thr en las posiciones 251-256, los residuos de aminoácido Met-His-Glu-Ala-Leu-His-Asn-HisTyr en las posiciones 428-436, y los residuos de aminoácido Gly-Gln-Pro-Glu-Asn en las posiciones 385-389. La numeración de los residuos puede diferir para IgG2-4.

En una modalidad, la proteína de unión a antígeno de la invención comprende una o más sustituciones de aminoácido con relación al dominio constante de IgG1 de humano que comprende la secuencia de SEQ ID No. 13. En una modalidad, dichas una o más sustituciones de aminoácido en la porción de unión a FcRn del dominio constante de la cadena pesada de IgG1 de humano están en los residuos de aminoácido 252, 254 y 256 numerados de conformidad con el índice UE de Kabat y la sustitución de aminoácido en el residuo 252 es una sustitución de met con tyr, phe, tryp o thr; la sustitución de aminoácido en el residuo 254 es una sustitución de ser con thr; y la sustitución de aminoácido en el residuo 256 es una sustitución de thr con ser, arg, glu, asp o thr. De preferencia, la sustitución de aminoácido en el residuo 252 es una sustitución con tyr; la sustitución de aminoácido en el residuo 254 es una sustitución con thr y la sustitución en el residuo 256 es una sustitución con glu. De preferencia, el dominio constante de IgG1 es como se muestra en SEQ ID No: 7.

En una modalidad, dichas una o más sustituciones de aminoácido en la porción de unión a FcRn del dominio constante de IgG1 de humano están en los residuos de aminoácido 250 y 428 numerados de conformidad con el índice UE de Kabat y la sustitución de aminoácido en el residuo 250 es una sustitución de thr con glu o gln; la sustitución de aminoácido en el residuo 428 es una sustitución de met con leu o phe. De preferencia, la sustitución de aminoácido en el residuo 250 es una sustitución con glu y la sustitución de aminoácido en el residuo 428 es una sustitución con leu. De preferencia, el dominio constante de IgG1 es como se muestra en SEQ ID No: 16.

En una modalidad, dichas una o más sustituciones de aminoácido en la porción de unión a FcRn del dominio constante de IgG1 de humano están en los residuos de aminoácido 428 y/o 434 numerados de conformidad con el índice UE de Kabat. De preferencia, la sustitución de aminoácido en el residuo 428 es una sustitución de met con leu y la

sustitución de aminoácido en el residuo 434 es una sustitución de asn con ser. De preferencia, el dominio constante de IgG1 es como se muestra en SEQ ID No: 10.

En una modalidad, dichas una o más sustituciones de aminoácido en la porción de unión a FcRn del dominio constante de IgG1 de humano están en los residuos de aminoácido 259 ó 308 numerados de conformidad con el índice UE de Kabat. De preferencia, la sustitución en el residuo 259 es una sustitución de val con ile y la sustitución de aminoácido en el residuo 308 es una sustitución de val con phe. De preferencia, el dominio constante de IgG1 es como se muestra en SEQ ID No: 19 o SEQ ID No: 22.

En una modalidad, dichas una o más sustituciones de aminoácido en la porción de unión a FcRn del dominio constante de la cadena pesada de IgG1 de humano están en los residuos de aminoácido 257 y 434 numerados de conformidad con el índice UE de Kabat como se muestra en SEQ ID No: 25.

En una modalidad, dichas una o más sustituciones de aminoácido en la porción de unión a FcRn del dominio constante de la cadena pesada de IgG1 de humano están en los residuos de aminoácido 433 y 434 numerados de conformidad con el índice UE de Kabat por ejemplo los residuos son H433K y N434F. De preferencia, el dominio constante de IgG1 es como se muestra en SEQ ID No: 165 o SEQ ID No: 167.

En una modalidad, la proteína de unión a antígeno comprende cualquiera de las modificaciones del dominio constante de IgG1 listadas en la Tabla A.

En una modalidad, la proteína de unión a antígeno es un anticuerpo.

En una modalidad, la proteína de unión a antígeno comprende un dominio variable de SEQ ID NO: 6 y/o SEQ ID NO: 3 o una variante de las mismas la cual contiene 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ó 10 sustituciones, inserciones o deleciones de aminoácido y/o comparte por lo menos 90% de identidad a través de la longitud de SEQ ID NO: 6 o SEQ ID NO: 3.

En una modalidad, la proteína de unión a antígeno comprende la secuencia de la cadena pesada como se muestra en SEQ ID No 5, 9 ó 15 opcionalmente con una secuencia de la cadena ligera como se muestra en SEQ ID No: 2. En una modalidad, la proteína de unión a antígeno

comprende una secuencia del dominio pesado variable como se muestra en SEQ ID NO: 78 u 80.

En una modalidad, la proteína de unión a antígeno comprende una secuencia de la cadena pesada como se muestra en SEQ ID NO: 145 o SEQ ID NO: 146 opcionalmente con una variante de la cadena ligera como se muestra en SEQ ID Nos. 148, 150 ó 152.

En una modalidad, la proteína de unión a antígeno comprende la secuencia de la cadena pesada como se muestra en SEQ ID No 18 ó 21 opcionalmente con una secuencia de la cadena ligera como se muestra en SEQ ID No: 2.

En una modalidad la proteína de unión a antígeno de conformidad con la invención comprende cualquiera de los dominios variables especificados en la Tabla A. En una modalidad, la proteína de unión a antígeno de conformidad con la invención comprende el dominio pesado variable que tiene la secuencia de cb1-3-VH, cb2-44-VH, cb1-39-VH, cb1-31-VH, cb2-11-VH, cb2-40-VH, cb2-35-VH, cb2-28-VH, cb2-38-VH, cb2-20-VH, cb1-8-VL o cb1-43-VL como se muestra en la Tabla A.

En una modalidad, la proteína de unión a antígeno de conformidad con la invención comprende el dominio ligero variable que tiene la secuencia de cb1-45-VL, cb1-4-VL, cb1-41-VL, cb1-37-VL, cb1-39-VL, cb1-33-VL, cb1-35-VL, cb1-31-VL, cb1-29-VL, cb1-22-VL, cb1-23-VL, cb1-12-VL, cb1-10-VL, cb2-1-VL, cb2-11-VL, cb2-40-VL, cb2-35-VL, cb2-28-VL, cb2-20-VL, cb1-3-VL, cb2-6-VL o cb2-44-VL como se muestra en la Tabla A.

Por ejemplo, la proteína de unión a antígeno de conformidad con la invención comprende un dominio variable que tiene la secuencia de cb1-3VH, cb2-44VH o cb2-6VL como se muestra en la Tabla A.

En una modalidad la proteína de unión a antígeno de conformidad con la invención comprende cualquiera de los dominios variables especificados en la Tabla A. En una modalidad, la proteína de unión a antígeno de conformidad con la invención comprende el dominio pesado variable que tiene una secuencia que se selecciona a partir de SEQ ID NO: 170 o SEQ ID NO: 174 o SEQ ID NO:178.

En una modalidad, la proteína de unión a antígeno de conformidad con la invención comprende el dominio ligero variable que tiene una secuencia que se selecciona a partir de SEQ ID NO: 171 o SEQ ID NO: 175 o SEQ ID NO:179.

En una modalidad adicional la proteína de unión a antígeno comprende cualquiera de las modificaciones del dominio constante de IgG1 listadas en la Tabla A.

También están dentro del alcance de la invención las variantes de todos los dominios variables antes mencionados o secuencias de la cadena pesada o secuencias de la cadena ligera las cuales contienen 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ó 10 sustituciones, inserciones o deleciones de aminoácido y/o comparten por lo menos 90% de identidad a través de la longitud de cualquiera de estas secuencias.

En una modalidad, la proteína de unión a antígeno de la invención comprende una variante de CDRH3 (SEQ ID No: 29) cuya variante tiene 1, 2, 3 ó 4 sustituciones de aminoácido en comparación con SEQ ID No: 29. En una modalidad, la variante de CDRH3 puede tener la secuencia como la que se muestra en cualquiera de SEQ ID Nos. 40 a 49.

En una modalidad, la proteína de unión a antígeno de la invención comprende una variante de CDRH1 (SEQ ID No: 27) cuya variante tiene 1 ó 2 sustituciones de aminoácido en comparación con SEQ ID No: 27. En una modalidad, la variante de CDRH1 puede tener la secuencia como la que se muestra en cualquiera de SEQ ID Nos. 33 a 38.

En una modalidad, la proteína de unión a antígeno de la invención comprende una variante de CDRL1 (SEQ ID No: 30) cuya variante tiene 1, 2 ó 3 sustituciones de aminoácido en comparación con SEQ ID No: 30. En una modalidad, la variante de CDRL1 puede tener la secuencia como la que se muestra en cualquiera de SEQ ID Nos. 50 a 61.

En una modalidad, la proteína de unión a antígeno de la invención comprende una variante de CDRL2 (SEQ ID No: 31) cuya variante tiene 1, 2 ó 3 sustituciones de aminoácido en comparación con SEQ ID No: 31. En una modalidad, la variante de CDRL2 puede tener la secuencia como la que se muestra en cualquiera de SEQ ID Nos. 62 a 72.

En una modalidad, la proteína de unión a antígeno de la invención comprende una variante de CDRL3 (SEQ ID No: 32) cuya variante tiene 1, 2 ó 3 sustituciones de aminoácido en comparación con SEQ ID No: 32. En una modalidad, la variante de CDRL3 puede tener la secuencia como la que se muestra en cualquiera de SEQ ID Nos. 73 a 76.

En una modalidad, la invención se refiere a una proteína de unión a antígeno la cual se une específicamente a TNF-alfa que comprende una o más o todas las CDRs que se seleccionan a partir de: CDRH1 (SEQ

ID NO: 27), CDRH2 (SEQ ID NO: 28), CDRH3 (SEQ ID No: 29), CDRL1 (SEQ ID NO: 30), CDRL2 (SEQ ID NO: 31), y CDRL3 (SEQ ID NO: 32); en la cual cualquiera de las CDRs puede ser una CDR variante que contiene 1, 2, 3 ó 4 sustituciones, inserciones o deleciones de aminoácido en comparación con CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2, o CDRL3. En un aspecto, la proteína de unión a antígeno de la invención comprende CDRH1, CDRH3, CDRL1, CDRL2 y CDRL3 en la cual cualquiera de las CDRs puede ser una CDR variante que contiene 1, 2, 3 ó 4 sustituciones, inserciones o deleciones de aminoácido en comparación con CDRH1, CDRH3, CDRL1, CDRL2, o CDRL3. En un aspecto, la proteína de unión a antígeno de la invención comprende CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 y CDRL3 en la cual cualquiera de las CDRs puede ser una CDR variante que contiene 1, 2, 3 ó 4 sustituciones, inserciones o deleciones de aminoácido en comparación con CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2, o CDRL3.

En un aspecto, la invención se refiere a un método para tratar un paciente humano que tiene una enfermedad, el método comprende administrar una proteína de unión a antígeno de conformidad con la invención.

La invención también se refiere a una proteína de unión a antígeno como la descrita en la presente solicitud para el tratamiento de enfermedad en un humano.

La invención también se refiere al uso de una proteína de unión a antígeno como la descrita en la presente solicitud en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de enfermedad, y a una proteína de unión a antígeno como la descrita en la presente solicitud para uso en el tratamiento de enfermedad.

En una modalidad, la enfermedad a ser tratada por la proteína de unión a antígeno de la invención es artritis reumatoide, artritis idiopática juvenil poliarticular, artritis psoriática, espondilitis anquilosante, colitis ulcerante, espondiloartropatía, enfermedad de Crohn o psoriasis.

En una modalidad, la proteína de unión a antígeno de la invención es para administrarse con metotrexato. El metotrexato se puede suministrar antes, después o al mismo tiempo, o sustancialmente al mismo tiempo, que la proteína de unión a antígeno. En una modalidad preferida la proteína de unión a antígeno de la invención es para administrarse con metotrexato a un paciente que padece de artritis reumatoide. En una

modalidad, el metotrexato se administra a pacientes que reciben una proteína de unión a antígeno de la invención para reducir el efecto inmunogénico de la proteína de unión a antígeno. En una modalidad, la proteína de unión a antígeno de la invención se administra a pacientes que ya reciben metotrexato. El metotrexato se puede sustituir con otro compuesta aceptable que reduzca la respuesta inmune hacia la proteína de unión a antígeno, por ejemplo corticosteroides.

En un aspecto, la invención se refiere a un método para tratar a un paciente que tiene una enfermedad, el método comprende administrar una proteína de unión a antígeno de la invención. En una modalidad, el método comprende administrar una proteína de unión a antígeno al paciente como una sola dosis de 20, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75 u 80 mg no más de una vez cada cuatro semanas, de preferencia una vez cada 5, 6, 7, u 8 semanas y de manera más preferida una vez cada 8 semanas. De preferencia, la dosis es 40 a 80 mg, por ejemplo 40 mg.

La invención también provee una secuencia de polinucleótido que codifica para cualquier secuencia de aminoácido descrita en la presente solicitud, incluyendo una cadena pesada de cualquiera de las construcciones de unión a antígeno descritas en la presente solicitud, y un polinucleótido que codifica para una cadena ligera de cualquiera de las construcciones de unión a antígeno descritas en la presente solicitud. Dichos polinucleótidos representan la secuencia codificadora que corresponde a las secuencias de polipéptido equivalentes, sin embargo se entenderá que dichas secuencias de polinucleótido se pueden clonar en un vector de expresión junto con un codón de inicio, una secuencia de señal apropiada y un codón de detención. El polinucleótido puede ser ADN o ARN.

La invención también provee una célula hospedera, por ejemplo una célula recombinante, transformada o transfectada, que comprende uno o más polinucleótidos que codifican para una cadena pesada y/o una cadena ligera de cualquiera de las construcciones de unión a antígeno descritas en la presente solicitud.

La invención también provee una composición farmacéutica que comprende una construcción de unión a antígeno como la descrita en la presente solicitud y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

La invención también provee un método para la producción de cualquiera de las construcciones de unión a antígeno descritas en la

presente solicitud cuyo método comprende el paso de cultivar una célula hospedera que comprende un primer y un segundo vector, dicho primer vector comprende un polinucleótido que codifica para una cadena pesada de cualquiera de las construcciones de unión a antígeno descritas en la presente solicitud y dicho segundo vector comprende un polinucleótido que codifica para una cadena ligera de cualquiera de las construcciones de unión a antígeno descritas en la presente solicitud, en un medio de cultivo libre de componentes derivados de animales/químicamente definido/libre de suero. De manera alternativa un método puede comprender cultivar una célula hospedera que comprende un vector que comprende un polinucleótido que codifica para una cadena pesada de cualquiera de las construcciones de unión a antígeno descritas en la presente solicitud y un polinucleótido que codifica para una cadena ligera de cualquiera de las construcciones de unión a antígeno descritas en la presente solicitud, de manera adecuada en un medio de cultivo libre de componentes derivados de animales/químicamente definido/libre de suero.

En otra modalidad, la invención incluye un método para incrementar el tiempo de vida media de un anticuerpo modificando una Fc de conformidad con las modificaciones descritas en la presente solicitud.

En otra modalidad, la invención incluye una proteína de unión a antígeno como la descrita en la presente solicitud con unión a FcRn incrementada y que tiene una o más sustituciones, deleciones o inserciones adicionales que modulan otra propiedad de la función efectora.

Una vez expresada mediante el método deseado, la proteína de unión a antígeno de la invención se examina después respecto a la actividad *in vitro* mediante el uso de una prueba apropiada. Actualmente se utilizan los formatos de prueba ELISA y Biacore convencionales para evaluar la unión cualitativa y cuantitativa de la construcción de unión a antígeno a su objetivo. De manera adicional, también se pueden utilizar otras pruebas *in vitro* para verificar la eficacia de neutralización antes de los estudios clínicos subsiguientes en humanos que se efectúan para evaluar la persistencia de la proteína de unión a antígeno en el cuerpo a pesar de los mecanismos de depuración usuales.

La dosis y duración del tratamiento se refieren a la duración relativa de las moléculas de la presente invención en la circulación humana, y pueden ser ajustadas por un experto en la técnica dependiendo de la condición que está siendo tratada y de la salud general del paciente

tomando como base la información provista en la presente solicitud. Se contempla que se podría requerir la dosificación repetida (por ejemplo una vez cada 4 semanas, 5 semanas, 6 semanas, 7 semanas u 8 semanas) a través de un periodo de tiempo extendido (por ejemplo cuatro a seis meses) para lograr la eficacia terapéutica máxima.

El modo de administración del agente terapéutico de la invención puede ser cualquier vía apropiada que suministre el agente al hospedero. Las proteínas de unión a antígeno, y las composiciones farmacéuticas de la invención son particularmente útiles para administración parenteral, es decir, por vía subcutánea (s.c.), intratecal, intraperitoneal, intramuscular (i.m.), intravenosa (i.v.), o intranasal. En una modalidad las proteínas de unión a antígeno y las composiciones farmacéuticas de la invención se administran a través de una pluma autoinyectora subcutánea o una jeringa pre-llenada.

Las proteínas de unión a antígeno de la invención se pueden preparar como composiciones farmacéuticas que contengan una cantidad efectiva de la proteína de unión a antígeno de la invención como un ingrediente activo en un vehículo farmacéuticamente aceptable. En el agente profiláctico de la invención, se prefiere una suspensión o solución acuosa que contenga la construcción de unión a antígeno, de preferencia amortiguado a pH fisiológico, en una formalista para inyección. Las composiciones para administración parenteral comúnmente comprenden una solución de la construcción de unión a antígeno de la invención o un coctel de la misma disuelta en un vehículo farmacéuticamente aceptable, de preferencia un vehículo acuoso. Se puede utilizar una variedad de vehículos acuosos, por ejemplo, solución salina al 0.9%, glicina al 0.3%, y similares. Estas soluciones se pueden preparar estériles y generalmente libres de materia particulada. Estas soluciones se pueden esterilizar mediante técnicas de esterilización bien conocidas, convencionales (por ejemplo, filtración). Las composiciones pueden contener sustancias auxiliares farmacéuticamente aceptables según se requiera para aproximarse a las condiciones fisiológicas tal como agentes para ajuste y amortiguamiento de pH, etc. La concentración de la proteína de unión a antígeno de la invención en dicha formulación farmacéutica puede variar ampliamente, es decir, desde menos de aproximadamente 0.5%, usualmente en o por lo menos aproximadamente 1% hasta cuando mucho 15 o 20% en peso y se va a seleccionar principalmente tomando como base

los volúmenes de fluido, viscosidades, etc., de conformidad con el modo de administración particular seleccionado.

Se ha reportado que adalimumab es difícil de formular a concentraciones altas. El documento WO2004016286 prescribe una formulación de adalimumab que comprende un amortiguador de citrato-fosfato y otros componentes incluyendo un poliol y un detergente. La presentación oral “Humira® - from Development to Commercial Scale Production” presentada el 25 de octubre de 2005 en la Conferencia de PDA reporta formulaciones que comprenden (i) amortiguador de citrato-fosfato; (ii) amortiguador de acetatos-fosfato; y (iii) amortiguador de fosfato. El amortiguador de acetato-fosfato analizado exhibe el peor efecto estabilizador en adalimumab. Curtis et al. (2008) Current Medical Research and Opinion, Volumen 27, p71-78, reportan la incidencia ardor y escozor en el sitio de inyección en pacientes con artritis reumatoide que utilizan adalimumab inyectable. El ardor y escozor han sido atribuidos parcialmente a las formulaciones basadas en amortiguador de citrato (Basic and Clinical Pharmacology & Toxicology, Volumen 98, p218-221, 2006; y Journal of Pharmaceutical Sciences, Volumen 97, p3051-3066, 2008). Sin embargo, el documento WO20100129469 describe una formulación de concentración alta de adalimumab que aún comprende un amortiguador de citrato-fosfato y otros componentes incluyendo un poliol sin cloruro de sodio. El documento WO2012065072 más reciente describe una formulación de adalimumab que comprende un agente tensoactivo y un poliol sin amortiguador, potencialmente evitando por lo tanto cualesquiera efectos del amortiguador de citrato al inyectar.

En una modalidad se provee una formulación líquida que comprende una proteína de unión a antígeno de TNF-alfa y un amortiguador de acetato. En una modalidad adicional la proteína de unión a TNF-alfa comprende una CDRH1 que se selecciona a partir de SEQ ID NO:27 o SEQ ID NO:’s 33-38 y/o una CDRH2 de SEQ ID NO:28 y/o una CDRH3 que se selecciona a partir de SEQ ID NO:29 o SEQ ID NO:’s 40-49 y/o una CDRL1 que se selecciona a partir de SEQ ID NO:30 o SEQ ID NO:’s 50-61 y/o una CDRL2 que se selecciona a partir de SEQ ID NO:31 o SEQ ID NO:’s 62-72 y/o una CDRL3 de SEQ ID NO:32 o SEQ ID NO:’s73-76. Por ejemplo la proteína de unión a antígeno de TNF-alfa comprende la CDRH1 de SEQ ID NO:27 y CDRH2 de SEQ ID NO:28 y CDRH3 de SEQ ID NO:29 y la CDRL1 de SEQ ID NO:30 y CDRL2 que se selecciona a partir

de SEQ ID NO:31 y una CDRL3 de SEQ ID NO:32 o variantes de las mismas.

La proteína de unión a antígeno de TNF-alfa puede ser adalimumab. La proteína de unión a antígeno de TNF-alfa puede ser BPC1494. La proteína de unión a antígeno de TNF-alfa puede ser BPC 1496.

Las proteínas de unión a antígeno de TNF-alfa descritas en la presente solicitud se formulan en un amortiguador de acetato. La formulación puede estar en forma líquida. La formulación también puede comprender una o más, una combinación de, o todos los siguientes: un agente tensoactivo; un quelante; una sal; y un aminoácido. Las proteínas de unión a antígeno de TNF-alfa están formuladas a concentraciones altas, por ejemplo a 50 mg/ml. En una modalidad, la formulación no comprende a poliol. En otra modalidad, la formulación no comprende un componente amortiguador adicional, por ejemplo citrato. Por lo tanto, las formulaciones descritas en la presente solicitud solucionan el problema de proveer proteínas de unión a antígeno de TNF-alfa, en particular las proteínas de unión a antígeno de TNF-alfa como las descritas en la Tabla A, a concentraciones altas en una formulación estable, y evitan los efectos de ardor y escozor de los amortiguadores basados en citrato.

En una modalidad, la formulación de amortiguador de acetato también comprende un agente tensoactivo y un quelante. En otra modalidad, la formulación de amortiguador de acetato también comprende un agente tensoactivo y una sal. En otra modalidad, la formulación de amortiguador de acetato también comprende un agente tensoactivo y un aminoácido. En otra modalidad, la formulación de amortiguador de acetato también comprende un quelante y una sal. En otra modalidad, la formulación de amortiguador de acetato también comprende un quelante y un aminoácido. En otra modalidad, la formulación de amortiguador de acetato también comprende una sal y un aminoácido.

En una modalidad, la formulación de amortiguador de acetato también comprende un agente tensoactivo, un quelante, y una sal. En otra modalidad, la formulación de amortiguador de acetato también comprende un agente tensoactivo, un quelante, y un aminoácido. En otra modalidad, la formulación de amortiguador de acetato también comprende un agente tensoactivo, una sal, y un aminoácido. En otra modalidad, la formulación de amortiguador de acetato también comprende un quelante, una sal, y un

aminoácido.

En una modalidad, el amortiguador es acetato de sodio trihidratado. Este puede estar a una concentración de 10 a 100 mM de acetato de sodio trihidratado (1.361 a 13.61 mg/ml). El acetato de sodio trihidratado puede estar presente en una cantidad de 20 a 80 mM, 30 a 70 mM, 40 a 60 mM, o aproximadamente 40 mM, aproximadamente 45 mM, aproximadamente 50 mM, aproximadamente 55 mM, o aproximadamente 60 mM. En una modalidad, el acetato de sodio trihidratado está a una concentración de aproximadamente 50 mM (6.80 mg/ml).

El amortiguador de acetato puede ser el único amortiguador. En otras palabras, la formulación podría no comprender otro componente amortiguador, tal como amortiguador de fosfato o citrato. El amortiguador de citrato puede ser perjudicial para la formulación por una cantidad de razones: (i) éste podría no ser un buen amortiguador debido a que los valores de las tres constantes de disociación están muy cercanos para permitir la distinción de las tres fases de receptor de protón; (ii) el citrato puede actuar como un quelante de metal y por lo tanto influir en el equilibrio de ión; (iii) el citrato es un metabolito del ciclo del ácido cítrico y tiene el potencial de influir en el metabolismo celular.

Los agentes tensoactivos (también conocidos como detergentes) apropiados pueden incluir, por ejemplo, polisorbatos (por ejemplo, polisorbato 20 u 80), éteres alquílicos de polioxietileno tales como Brij 35.RTM., poloxámeros (por ejemplo poloxámero 188, Poloxámero 407), Tween 20, Tween 80, Cremophor A25, Sympatens ALM/230, y Mirj. En una modalidad, el agente tensoactivo es polisorbato 80. La formulación puede comprender una concentración de 0.01 a 0.1% de polisorbato 80 (0.1 a 1 mg/ml). El polisorbato 80 puede estar presente en una cantidad de 0.01 a 0.05%, ó 0.01 a 0.03%; o aproximadamente 0.015%, aproximadamente 0.02%, o aproximadamente 0.025%. En una modalidad, el polisorbato 80 está a una concentración de aproximadamente 0.02% p/v (0.2 mg/ml). Una concentración alta de polisorbato 80, por ejemplo más de 0.1%, puede ser perjudicial para la formulación debido a que este agente tensoactivo puede contener niveles altos de oxidantes los cuales pueden incrementar los niveles de oxidación en almacenamiento de la formulación y por lo tanto reducir el tiempo de vida en anaquel.

Los agentes quelantes apropiados pueden incluir EDTA y complejos de metal (por ejemplo complejos de Zn-proteína). En una

modalidad, el agente quelante es EDTA. La formulación puede comprender una concentración de 0.02 a 0.2 mM de EDTA (0.00748 a 0.0748 mg/ml). El EDTA puede estar presente en una cantidad de 0.02 a 0.15 mM, 0.02 a 0.1 mM, 0.03 a 0.08 mM, ó 0.04 a 0.06 mM; o aproximadamente 0.03 mM, aproximadamente 0.04 mM, aproximadamente 0.05 mM, o aproximadamente 0.06 mM. En una modalidad, el EDTA está a una concentración de aproximadamente 0.05 mM (0.018 mg/ml).

Las sales apropiadas pueden incluir cualesquiera contra-iones formadores de sal, tal como sodio. Por ejemplo, se puede utilizar cloruro de sodio, o se puede utilizar acetato aniónico en lugar de cloruro como un contra-ión en una sal de sodio. En una modalidad, la sal es cloruro de sodio. La formulación puede comprender una concentración de 25 a 100 mM de cloruro de sodio (1.461 a 5.84 mg/ml). El cloruro de sodio puede estar presente en una cantidad de 35 a 90 mM, 45 a 80 mM, 25 a 70 mM, ó 45 a 60mM; ó 45 mM, 46 mM, 47 mM, 48 mM, 49 mM, 50 mM, 51 mM, 52 mM, 53 mM, 54 mM, 55 mM. En una modalidad, el cloruro de sodio está a una concentración de aproximadamente 51 mM (2.98 mg/ml).

Los aminoácidos apropiados pueden incluir arginina. La formulación puede comprender una concentración de 0.5 a 5% de base libre de arginina (5 a 50 mg/ml). La base libre de arginina puede estar presente en una cantidad de En otras modalidades, la base libre de arginina puede estar entre 0.5 a 4.0%, 0.5 a 3.5%, 0.5 a 3.0%, 0.5 a 2.5%, o aproximadamente 0.5%, aproximadamente 0.75%, aproximadamente 1%, aproximadamente 1.5%, aproximadamente 2%, o aproximadamente 3%. En una modalidad, la arginina está a una concentración de aproximadamente 1% (10 mg/ml).

Un poliol es una sustancia con múltiples grupos hidroxilo, e incluye azúcares (azúcares reductores y no reductores), alcoholes de azúcar y ácidos de azúcar. Los ejemplos de polioles incluyen fructosa, manosa, maltosa, lactosa, arabinosa, xilosa, ribosa, rhamnosa, galactosa, glucosa, sacarosa, trehalosa, sorbosa, melezitosa, rafinosa, manitol, xilitol, eritritol, treitol, sorbitol, glicerol, L-gluconato y sales metálicas de las mismas. En una modalidad, la formulación de la invención no comprende un poliol.

En una modalidad, la formulación de amortiguador de acetato también comprende una o más, o una combinación de, o todos los

siguientes: polisorbato 80, EDTA, cloruro de sodio, y base libre de arginina.

El pH de la formulación se puede ajustar a pH 5.0 a 7.0. En una modalidad, el ácido cítrico está presente (aproximadamente 100 mM de ácido acético) para ajustar la formulación hasta aproximadamente pH 5.5. En otras modalidades, el pH se puede ajustar a pH 5.0, 5.5, 6.0, 6.5 ó 7.0. Incluso en otras modalidades de la invención de la invención, se utiliza NaOH o HCI para ajustar el pH a 5.0, 5.5, 6.0, 6.5 ó 7.0.

Las proteínas de unión a antígeno de TNF-alfa descritas en la presente solicitud se pueden formular en el intervalo de concentración de 20 a 300 mg/ml. Por ejemplo, la proteína de unión a antígeno está presente en una concentración de 20-200 mg/ml o 50-100 mg/ml; o aproximadamente 40 mg/ml o aproximadamente 45 mg/ml o aproximadamente 50 mg/ml o aproximadamente 55 mg/ml o aproximadamente 60 mg/ml o aproximadamente 70 mg/ml o aproximadamente 80 mg/ml o aproximadamente 90 mg/ml, o aproximadamente 100 mg/ml. En una modalidad, la proteína de unión a antígeno de TNF-alfa está a una concentración de aproximadamente 50 mg/ml.

La proteína de unión a antígeno de TNF-alfa puede ser adalimumab. La proteína de unión a antígeno de TNF-alfa puede ser BPC1494. La proteína de unión a antígeno de TNF-alfa puede ser BPC 1496.

En una modalidad, la formulación es estable durante por lo menos 1 año, por lo menos 18 meses, o por lo menos 2 años. Por ejemplo, la formulación es estable a una temperatura de aproximadamente 5ºC durante por lo menos 1 año, por lo menos 18 meses, o por lo menos 2 años. En otra modalidad, la formulación es estable a temperatura ambiente (aproximadamente 25ºC). Por ejemplo, la formulación es estable a una temperatura de aproximadamente 25ºC durante por lo menos 14 semanas, por lo menos 2 semanas, por lo menos 1 semana, por lo menos 6 días, por lo menos 5 días, por lo menos 4 días, por lo menos 3 días, por lo menos 2 días o por lo menos 1 día. En otra modalidad, la formulación es estable a una temperatura de aproximadamente 40ºC. Por ejemplo, la formulación es estable a una temperatura de aproximadamente 40ºC durante por lo menos 9 semanas o por lo menos 4 semanas.

Como se muestra mediante los Ejemplos 25 y 26 más adelante, las formulaciones son estables a temperatura ambiente (aproximadamente 25ºC). Por lo tanto, existe un riesgo mínimo de

agregados o fragmentos de bajo peso molecular que se formen en los dispositivos pre-llenados para inyección que pudieran quedar a temperatura ambiente por más del tiempo recomendado. Los agregados son potencialmente inmunogénicos (Véase The AAPS Journal 2006; 8 (3) Article 59 Themed Issue: Proceedings of the 2005 AAPS Biotec Open Forum on Aggregation of Protein Therapeutics, Guest Editor - Steve Shire, Effects of Protein Aggregates: An Immunologic Perspective) y los fragmentos de bajo peso molecular pueden provocar autoanticuerpos pre-existentes (véase J Immunol 2008; 181:3183-3192; Human Anti-IgG1 Hinge Autoantibodies Reconstitute the Effector Functions of Proteolytically Inactivated IgGs1).

La estabilidad de una proteína de unión a antígeno de TNF-alfa en una formulación líquida se puede evaluar mediante cualquiera de o una combinación de: apariencia mediante observación visual, concentración de proteína (A280nm), cromatografía por exclusión de tamaño (SEC), Enfocamiento iso-eléctrico capilar (c-IEF), y mediante una prueba de unión funcional (ELISA). Por ejemplo, el porcentaje de monómero, agregado, o fragmento, o combinaciones de los mismos, se puede utilizar para determinar la estabilidad. En una modalidad, una formulación líquida estable es una formulación que tiene menos de aproximadamente 10%, o menos de aproximadamente 5% de la proteína de unión a antígeno de TNF-alfa presente como agregado en la formulación. La formulación puede tener un contenido de monómero de por lo menos 95%, o por lo menos 96%, o por lo menos 97%, o por lo menos 98%, o por lo menos 99%. La formulación puede tener un contenido de monómero de por lo menos 95%, o por lo menos 96%, o por lo menos 97%, o por lo menos 98%, o por lo menos 99% a temperatura ambiente (aproximadamente 25ºC) después de aproximadamente 2 semanas. La formulación puede tener un contenido de monómero de por lo menos 95%, o por lo menos 96%, o por lo menos 97%, o por lo menos 98%, o por lo menos 99% a temperatura ambiente (aproximadamente 25ºC) después de aproximadamente 1 semana. La formulación puede tener un contenido de monómero de por lo menos 95%, o por lo menos 96%, o por lo menos 97%, o por lo menos 98%, o por lo menos 99% a temperatura ambiente (aproximadamente 25ºC) después de aproximadamente 1 día.

Por lo tanto, una composición farmacéutica de la invención para inyección se puede preparar de modo que contenga 1 ml de agua

amortiguada estéril, y entre aproximadamente 1 mg hasta aproximadamente 100 mg, por ejemplo aproximadamente 30 mg hasta aproximadamente 100 mg o de manera más preferida, aproximadamente 35 mg hasta aproximadamente 80 mg, tal como 40, 50, 80 ó 90 mg de una construcción de unión a antígeno de la invención. Los métodos reales para preparar composiciones que puedan ser administradas por vía parenteral son bien conocidos o serán evidentes para los expertos en la técnica y se describen con mayor detalle en, por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Science, 15ª ed., Mack Publishing Company, Easton, Pennsilvania. Para la preparación de formulaciones de construcción de unión a antígeno que se pueden administrar por vía intravenosa de la invención véase Lasmar U y Parkins D "The formulation of Biopharmaceutical products", Pharma. Sci.Tech.today, página 129-137, Vol.3 (3ª abril 2000), Wang, W "Instability, stabilisation and formulation of liquid protein pharmaceuticals", Int. J. Pharm 185 (1999) 129-188, Stability of Protein Pharmaceuticals Part A and B ed Ahern T.J., Manning M.C., New York, NY: Plenum Press (1992), Akers,M.J. "Excipient-Drug interactions in Parenteral Formulations", J.Pharm Sci 91 (2002) 2283-2300, Imamura, K et al "Effects of types of sugar on stabilization of Protein in the dried state", J Pharm Sci 92 (2003) 266-274,Izutsu, Kkojima, S. "Excipient crystalinity and its protein-structure-stabilizing effect during freeze-drying", J Pharm. Pharmacol, 54 (2002) 1033-1039, Johnson, R, "Mannitol-sucrose mixtures-versatile formulations for protein lyophilization", J. Pharm. Sci, 91 (2002) 914-922.

De preferencia, la proteína de unión a antígeno de la invención se provee o se administra a una dosis de aproximadamente 40 mg. De preferencia la proteína de unión a antígeno es apropiada para suministro subcutáneo y se suministra por vía subcutánea. También se pueden utilizar otras vías de dosificación o administración, como se describe en la presente solicitud.

En una modalidad las proteínas de unión a antígeno de conformidad con cualquier aspecto de la invención muestran Tiempo Medio de Residencia incrementado en comparación con una IgG que comprende la secuencia de la cadena ligera de SEQ ID No. 2 y la secuencia de la cadena pesada de SEQ ID No.12.

La capacidad de unión de IgGs modificadas y de moléculas que comprenden un dominio constante de IgG o porción de unión a FcRn de la misma se pueden caracterizar mediante varias pruebas *in vitro*. La

publicación del PCT WO 97/34631 de Ward describe con detalle varios métodos. Por ejemplo, con el fin de comparar la capacidad de la IgG modificada o fragmentos de la misma para unirse a FcRn con la de la IgG de tipo silvestre, la IgG modificada o fragmentos de la misma y la IgG de tipo silvestre se pueden radio-marcar y hacer reaccionar con células que expresen FcRn *in vitro*. Después se puede contar y comparar la radioactividad de las fracciones unidas a célula. Las células que expresan FcRn para ser utilizadas para esta prueba pueden ser líneas de célula endotelial incluyendo células endoteliales capilares pulmonares de ratón (B10, D2.PCE) obtenidas a partir de pulmones de ratones B10.DBA/2 y células endoteliales transformadas con SV40 (SVEC) (Kim et al., J Immunol., 40: 457-465,1994) obtenidas a partir de ratones C3H/HeJ. Sin embargo, también se pueden utilizar otros tipos de células que expresen números suficientes de FcRn, incluyendo células de mamífero que expresan FcRn recombinante de una especie elegida. De manera alternativa, después de contar la radioactividad de la fracción unida de la IgG modificada o la de la IgG no modificada, las moléculas unidas se pueden después extraer con el detergente, y se puede calcular y comparar el por ciento de liberación por número unitario de células.

La afinidad de las proteínas de unión a antígeno de las invenciones para FcRn se puede medir utilizando medición de resonancia de plasmón de superficie (SPR) utilizando, por ejemplo, un BIAcore 2000 (BIAcore Inc.) como se describió previamente (Popov et al., Mol. Immunol., 33: 493-502,1996; Karlsson et al., J Immunol. Methods, 145: 229-240,1991, de las cuales ambas se incorporan para referencia en sus totalidades). En este método, las moléculas de FcRn se acoplan a un chip del detector BIAcore (por ejemplo, chip CM5 de Pharmacia) y la unión de la IgG modificada al FcRn inmovilizado se mide a una cierta velocidad de flujo para obtener los sensorgramas utilizando el software BIA evaluation 2.1, y basándose en los mismos se pueden calcular las velocidades de asociación y disociación de la IgG modificada, los dominios constantes, o fragmentos de la misma, a FcRn. También se pueden medir las afinidades relativas de las proteínas de unión a antígeno de la invención e IgG no modificada para FcRn mediante una prueba de unión por competición simple. Asimismo, también se pueden medir las afinidades de las IgGs modificadas o fragmentos de las mismas, y la IgG de tipo silvestre para FcRn utilizando un estudio de saturación y el análisis Scatchard.

La transferencia de IgG modificada o fragmentos de la misma a través de la célula por FcRn se puede medir mediante prueba de transferencia *in vitro* utilizando IgG radiomarcada o fragmentos de la misma y células que expresan a FcRn y comparando la radioactividad de un lado de la monocapa de células con la del otro lado. De manera alternativa, dicha transferencia se puede medir *in vivo* alimentando ratones lactantes de 10 a 14 días de edad con IgG modificada, radiomarcada y contando periódicamente la radioactividad en muestras de sangre lo que indica la transferencia de la IgG a través del intestino hacia la circulación (o cualquier otro tejido objetivo, por ejemplo, los pulmones). Para analizar la inhibición dependiente de la dosis de la transferencia de IgG a través del intestino, se da a los ratones una mezcla de IgG de radiomarcada y no marcada a una cierta relación y la radioactividad del plasma se puede medir periódicamente (Kim et al., Eur. R Immunol., 24: 2429-2434, 1994).

El tiempo de vida media de las proteínas de unión a antígeno se puede medir mediante estudios farmacocinéticos de conformidad con el método descrito por Kim et al. (Eur. J. of Immuno. 24: 542, 1994), el cual se incorpora para referencia en la presente solicitud en su totalidad. De conformidad con este método, la proteína de unión a antígeno radiomarcada se inyecta por vía intravenosa en los ratones y su concentración en plasma se mide periódicamente como una función del tiempo, por ejemplo, a los 3 minutos hasta 72 horas después de la inyección. La curva de depuración obtenida de esta manera debe ser bifásica. Para la determinación del tiempo de vida media *in vivo* de las IgGs modificadas o fragmentos de las mismas, se calcula la velocidad de depuración en la fase β y se compara con la de la IgG no modificada.

Las proteínas de unión a antígeno de la invención se pueden analizar respecto a la capacidad para unirse de manera inmunoespecífica a un antígeno. Dicha prueba se puede efectuar en solución (por ejemplo, Houghten, BiolTechniques, 13: 412-421,1992), sobre glóbulos (Lam, Nature, 354: 82-84,1991, en chips (Fodor, Nature, 364: 555-556,1993), en bacterias (patente E.U.A. No. 5,223,409), en esporas (patentes E.U.A. Nos. 5,571,698; 5,403,484; y 5,223,409), en plásmidos (Cull et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89: 1865-1869,1992) o en fago (Scott y Smith, Science, 249: 386-390,1990; Devlin, Science, 249: 404-406,1990; Cwirla et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 87: 6378-6382, 1990; y Felici, J : Mol. Biol., 222: 301-310, 1991) (cada una de estas referencias se incorpora en la presente

solicitud en su totalidad para referencia). Los anticuerpos que se identifica se unen de manera inmunoespecífica a un antígeno o fragmento del mismo después se pueden analizar respecto a su afinidad y especificidad para el antígeno.

Las proteínas de unión a antígeno de la invención se pueden analizar respecto a unión inmunoespecífica a un antígeno y reactividad cruzada con otros antígenos utilizando cualquier método conocido en la técnica. Las pruebas inmunológicas que se pueden utilizar para analizar la unión inmunoespecífica y reactividad cruzada incluyen, pero no se limitan a, sistemas de prueba competitiva y no competitiva utilizando técnicas tales como western blot, radioinmunoensayos, ELISA (prueba con inmunosorbente ligado a enzima), pruebas inmunológicas "en emparedado", pruebas de inmunoprecipitación, reacciones con precipitina, reacciones con precipitina por difusión en gel, pruebas de inmunodifusión, pruebas de aglutinación, pruebas de fijación al complemento, pruebas inmunoradiométricas, pruebas inmunológicas fluorescentes, pruebas inmunológicas con proteína A, por nombrar algunas. Dichas pruebas son de rutina y bien conocidas en la técnica (véase, por ejemplo, Ausubel et al, eds, 1994, Current Protocols in Molecular Biology, Vol. 1, John Wiley & Sons, Inc., New York, la cual se incorpora para referencia en la presente solicitud en su totalidad). Las pruebas inmunológicas de ejemplo se describen brevemente más adelante (pero no están pensadas a manera de limitación).

En una modalidad preferida, se utiliza el análisis cinético BIAcore para determinar las velocidades de asociación y disociación de unión de los anticuerpos a un antígeno. El análisis cinético BIAcore comprende analizar la unión y disociación de un antígeno de los chips con anticuerpos inmovilizados sobre su superficie.

Proteína de unión a antígeno: El término “proteína de unión a antígeno” tal como se utiliza en la presente solicitud incluye referencia a anticuerpos, fragmentos de anticuerpo y otras construcciones de proteína, las cuales son capaces de unirse a TNF-alfa.

Anticuerpo: El término “anticuerpo” se utiliza en la presente solicitud en el sentido más amplio e incluye referencia a moléculas con un dominio tipo inmunoglobulina e incluye anticuerpos monoclonales, recombinantes, policlonales, quiméricos, humanizados, biespecíficos y de heteroconjugado.

Dominio constante de la cadena pesada de IgG1 de humano: se refiere a la secuencia de aminoácido de humano para el dominio constante de la cadena pesada de IgG1 que se encuentra en la Naturaleza, incluyendo variaciones alélicas.

"Tiempo de vida media ($t_{1/2}$)" se refiere al tiempo requerido para que la concentración del polipéptido de unión a antígeno llegué la mitad de su valor original. El tiempo de vida media en suero de las proteínas se puede medir utilizando estudios farmacocinéticos de conformidad con el método descrito por Kim et al. (Eur. J. of Immuno. 24: 542, 1994). De conformidad con este método, la proteína radiomarcada se inyecta por vía intravenosa en los ratones y su concentración en plasma se mide periódicamente como una función del tiempo, por ejemplo, aproximadamente a 3 minutos hasta aproximadamente 72 horas después de la inyección. Otros métodos para análisis farmacocinético y determinación del tiempo de vida media de una molécula serán familiares para el experto en la técnica. Los detalles se pueden encontrar en Kenneth, A et al: Chemical Stability of Pharmaceuticals: A Handbook for Pharmacists y en Peters et al, Pharmacokinetic analysis: A Practical Approach (1996). También se hace referencia a "Pharmacokinetics", M Gibaldi & D Perron, published by Marcel Dekker, 2ª Rev. ex edición (1982), el cual describe parámetros farmacocinéticos tales como los tiempos de vida media t alfa y t beta y el área bajo la curva (ABC), y "Clinical Pharmacokinetics: Concepts and Applications", Rowland y Tozer, tercera edición (1995).

"Depuración (CL)" se refiere al volumen del plasma depurado irreversiblemente de una proteína por unidad de tiempo. La depuración se calcula como la Dosis/ABC (ABC: es el área bajo la curva o el área bajo la curva de concentración-tiempo de fármaco en plasma). La depuración también se puede calcular mediante la velocidad de eliminación de fármaco dividida entre la concentración en plasma del fármaco (velocidad de eliminación = CL*concentración).

"Tiempo medio de residencia (MRT)" es el tiempo promedio que los polipéptidos de unión a antígeno residen en el cuerpo antes de ser eliminados de manera irreversible. Calculado como MRT= AUMC/ABC.

"Concentración en estado constante" (Css) es la concentración alcanzada cuando la velocidad de eliminación del fármaco se vuelve igual a la velocidad de administración del fármaco como resultado de la administración continua del fármaco. La Css fluctúa entre niveles máximos

y mínimos y se mide en microgramos/ml. “Concentración media mínima en estado constante” se refiere a la media del nivel mínimo a través de la población de pacientes a un tiempo dado.

“Concentración media mínima en estado constante comparable” se refiere a la concentración media mínima en estado constante que es la misma o está dentro de aproximadamente 10% a 30% del valor declarado. La concentración media mínima en estado constante comparable para los polipéptidos de unión a antígeno de la invención puede ser considerada que son aquellas concentraciones medias mínimas en estado constante que son 0.8 a 1.25 veces la concentración media mínima en estado constante lograda con una IgG que comprende la secuencia de la cadena ligera de SEQ ID No. 2 y la secuencia de la cadena pesada de SEQ ID No. 12.

Los tiempos de vida media y las ABC se pueden determinar a partir de una curva de concentración en suero del fármaco (por ejemplo el polipéptido de unión a antígeno de la presente invención) contra el tiempo. El tiempo de vida media se puede determinar a través de análisis compartimental o no compartimental. Se puede utilizar el paquete de análisis WINNONLIN™ (disponible de Pharsight Corp., Mountain View, CA94040, EE.UU.), por ejemplo, para modelar la curva. En una modalidad, “tiempo de vida media” se refiere al tiempo de vida media terminal.

Se une específicamente: El término “se une específicamente” tal como se utiliza a través de toda la presente descripción con relación a las proteínas de unión a antígeno significa que la la proteína de unión a antígeno se une a TNF-alfa sin unión o unión insignificante a otras proteínas no relacionadas. El término sin embargo no excluye el hecho de que las proteínas de unión a antígeno también pueden presentar reactividad cruzada con moléculas cercanamente relacionadas. Las proteínas de unión a antígeno descritas en la presente solicitud se pueden unir a TNF-alfa con una afinidad por lo menos 2, por lo menos 5, por lo menos 10, por lo menos 50, por lo menos 100, o por lo menos 1000 veces mayor que con las que éstas se unen a moléculas cercanamente relacionadas.

CDRs:

Las “CDRs” se definen como las secuencias de aminoácido de la región determinante de complementariedad de una proteína de unión a antígeno. Estas son las regiones hipervariables de las cadenas pesada y

ligera de inmunoglobulina. Existen tres CDRs de la cadena pesada y tres CDRs de la cadena ligera (o regiones CDR) en la porción variable de una inmunoglobulina. Por lo tanto, "CDRs" tal como se utiliza en la presente solicitud se refiere a todas las tres CDRs de la cadena pesada, todas las tres CDRs de la cadena ligera, todas las CDRs de la cadena pesada y ligera, o por lo menos dos CDRs.

A través de toda esta descripción, los residuos de aminoácido en las secuencias del dominio variable y en las secuencias de anticuerpo de longitud completa se enumeran de conformidad con la convención de numeración de Kabat. De manera similar, los términos “CDR”, “CDRL1”, “CDRL2”, “CDRL3”, “CDRH1”, “CDRH2”, “CDRH3” utilizados en los Ejemplos siguen la convención de numeración de Kabat. Para mayor información, véase Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 4ª Ed., U.S. Department of Health and Human Services, National Institutes of Health (1987).

% de identidad de las variantes: El término “e idéntico" o “identidad de secuencia” indica el grado de identidad entre dos secuencias de ácido nucleico o dos secuencias de aminoácido cuando se alinean de manera óptima y se comparan con las inserciones o deleciones apropiadas. Las variantes descritas en la presente solicitud pueden tener 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, ó 99% de identidad con la CDR nativa con las secuencias de dominio variable a nivel de aminoácido.

Se entenderá que las modalidades particulares descritas en la presente solicitud se muestran a manera de ilustración y no como limitaciones de la invención. Las características principales de esta invención se pueden utilizar en varias modalidades sin alejarse del alcance de la invención. Los expertos en la técnica reconocerán, o serán capaces de establecer utilizando no más que estudios de rutina, numerosos equivalentes a los procedimientos específicos descritos en la presente solicitud. Se considera que dichos equivalentes están dentro del alcance de esta invención y están cubiertos por las reivindicaciones. Todas las publicaciones y solicitudes de patente mencionadas en la descripción son indicativas del nivel de habilidad de los expertos en la técnica a la cual pertenece esta invención. Todas las publicaciones y solicitudes de patente se incorporan en la presente solicitud para referencia al mismo grado que si cada publicación o solicitud de patente individual fuera indicada específica individualmente para ser incorporada para referencia. El uso de la palabra

"un" o "una" cuando se utiliza en conjunto con el término "que comprende" en las reivindicaciones y/o la descripción puede significar "uno", pero también es consistente con el significado de "uno o más", "por lo menos uno", y "uno o más de uno". El uso del término "o" en las reivindicaciones se utiliza para decir "y/o" a menos que se indique explícitamente que es para referirse a las alternativas solamente o que las alternativas son mutuamente excluyentes, aunque la descripción soporta una definición que se refiera a solamente a alternativas y "y/o". A través de toda esta solicitud, el término "aproximadamente" se utiliza para indicar que un valor incluye la variación de error inherente para el dispositivo, el método que está siendo utilizado para determinar el valor, con la variación que existe entre los individuos bajo estudio.

Tal como se utilizan en esta descripción y reivindicaciones, las palabras "que comprende" (y cualquier forma de que comprende, tal como "comprenden" y "comprende"), "que tiene" (y cualquier forma de que tiene, tal como "tienen" y "tiene"), "que incluye" (y cualquier forma de que incluye, tal como "incluye" e "incluyen") o "que contiene" (y cualquier forma de que contiene, tal como "contiene" y "contienen") son incluyentes o de extremo abierto y no excluyen elementos o pasos del método adicionales, no recitados. En un aspecto dichos términos de extremo abierto también comprenden dentro de su alcance una definición restringida o cerrada, por ejemplo tal como "que consiste esencialmente de", o "que consiste de".

El término "o combinaciones de los mismos" tal como se utiliza en la presente solicitud se refiere a todas las permutaciones y combinaciones de los ítems listados que preceden al término. Por ejemplo, "A, B, C, o combinaciones de los mismos pretende incluir por lo menos uno de: A, B, C, AB, AC, BC, o ABC, y si el orden es importante en un contexto particular, también BA, CA, CB, CBA, BCA, ACB, BAC, o CAB. Continuando con este ejemplo, están expresamente incluidas combinaciones que contienen repeticiones de uno o más ítems o términos, tales como BB, AAA, AB, BBC, AAABCCCC, CBBAAA, CABABB, etc. El experto en la técnica entenderá típicamente no hay límite en el número de ítems o términos en cualquier combinación, a menos que de lo contrario sea evidente a partir del contexto.

Todas las composiciones y/o métodos descritos y reclamados en la presente solicitud se pueden hacer y ejecutar sin experimentación indebida en vista de la presente descripción. Aunque las composiciones y

métodos de esta invención han sido descritos en términos de modalidades preferidas, será evidente para los expertos en la técnica que se pueden aplicar variaciones a las composiciones y/o métodos y en los pasos o en la secuencia de pasos del método descrito en la presente solicitud sin alejarse del concepto, alcance y campo de la invención. Todos de dichos sustitutos y modificaciones similares evidentes para los expertos en la técnica están considerados dentro del alcance, campo y concepto de la invención como queda definido por las reivindicaciones anexas.

Todos los documentos a los que se hace referencia en la presente solicitud están incorporados para referencia hasta el grado máximo permisible.

Cualquier elemento de una descripción está contemplado explícitamente en combinación con cualquier otro elemento de una descripción, a menos que de otra manera sea evidente a partir del contexto de la solicitud.

La presente invención se describe también con referencia a los siguientes ejemplos, no limitativos sobre la presente invención.

EJEMPLOS

EJEMPLO 1

Clonación de vectores de expresión de anticuerpo

Las construcciones de expresión de ADN que codifican para los dominios pesado variable (VH) y ligero variable (VL) de un anticuerpo anti-TNFα se preparan previamente de novo e incluyen los sitios de restricción para clonación en vectores de expresión mamíferos. Ambas secuencias de dominio variable de la cadena pesada y de la cadena ligera se optimizan en cuanto a secuencia para expresión en células de mamífero (para la metodología véase los documentos WO2009024567 y Kotsopoulou et al, J Biotechnol (2010) 146: 186-193). La información que describe las secuencias de la región variable de la cadena pesada y de la cadena ligera se puede encontrar en la patente norteamericana US6090382. Para generar las construcciones utilizadas en este estudio, las secuencias del dominio pesado variable (VH) se amplifican utilizando PCR. Los iniciadores de PCR contienen sitios de restricción *HindIII* y *SpeI* para encuadrar el dominio de VH que contiene la secuencia de señal para clonación en vectores de

expresión mamíferos pTT que contienen la región constante γ1 de humano. De manera similar la secuencia del dominio VL se amplifica mediante PCR utilizando iniciadores que contienen los sitios de restricción *HindIII* y *BsiWI* para facilitar la clonación en un vector de expresión mamífero pTT que contiene la región constante kappa de humano. Al plásmido de expresión de la cadena pesada se le asigna el código SJC322 y el plásmido de expresión de la cadena ligera se le asigna el código de plásmido SJC321.

Se preparan de novo construcciones de expresión de ADN que codifican para regiones de la cadena pesada y la cadena ligera alternativas de anticuerpos anti-TNFα con modificaciones en las regiones CDR (como se describe en Rajpal et al. PNAS (2005) 102(24): pg 8466-8471) mediante acumulación de oligonucleótidos traslapantes y técnicas de biología molecular similares a aquellas descritas anteriormente. Los plásmidos resultantes que codifican para las cadenas pesada y ligera de las variantes cb1-3, cb2-6 y cb2-44 se describen en la Tabla 1.

EJEMPLO 2

Diseño de la región Fc

Se utilizan iniciadores para cebado sentido y antisentido para introducir modificaciones (M252Y/S254T/T256E y T250Q/M428L) en la región constante γ1 de humano del plásmido que codifica para la cadena pesada de pascolizumab (anticuerpo anti-IL-4) utilizando el protocolo Quikchange (Promega).

Como se describió en el Ejemplo 1 anterior, se genera un fragmento de PCR que codifica para el dominio VH de un anticuerpo anti-TNFα utilizando como plantilla un vector optimizado en cuanto a codón, previamente construido. El fragmento resultante se clona utilizando *HindIII* y *SpeI* en un vector de expresión pTT que contiene la región constante γ1 de humano modificada descrita en el párrafo precedente. El plásmido que codifica para la cadena pesada del anticuerpo anti-TNFα con la modificación M252Y/S254T/T256E se designa SJC324. El plásmido que codifica para la cadena pesada con la modificación T250Q/M428L se designa SJC323.

Se utilizan iniciadores para cebado sentido y antisentido para introducir modificaciones en la región constante γ1 de humano del plásmidos de expresión de la cadena pesada anti-TNFα SJC322 utilizando

el protocolo Quikchange (Promega). El plásmido SJC326 codifica para la cadena pesada anti-TNFα que contiene la modificación M428L/N434S en la región constante γ1 de humano. El plásmido SJC328 codifica para la cadena pesada anti-TNFα que contiene la modificación V308F en la región constante γ1 de humano.

EJEMPLO 3

expresión de anticuerpos en células HEK2936E utilizando vectores episómicos pTT5

Los plásmidos de expresión que codifican para las cadenas pesada y ligera descritos anteriormente se co-transfectan en forma transitoria en células HEK 2936E. El anticuerpo expresado se purifica a partir del sobrenadante mediante cromatografía de afinidad utilizando una columna de Proteína A HiTrap de 1ml (GE Healthcare). La siguiente Tabla 1 muestra la lista de anticuerpos producidos.

Algunos anticuerpos también se expresan en células CHO utilizando un conjunto diferente de vectores de expresión. Véase Ejemplos 13, 14 y 15 para una descripción de la biología molecular, expresión y purificación.

TABLA 1

Lista anticuerpos expresados

Código BPC	Variante de CDR	Modificaciones de Fc	Vector de expresión de la cadena pesada	SEQ ID de la cadena pesada	Vector de expresión de la cadena ligera	SEQ ID de la cadena ligera
BPC1492	Ninguna	Tipo silvestre	SJC322	12	SJC321	2
BPC1494	Ninguna	M252Y/S254T/ T256E	SJC324	5	SJC321	2
BPC1496	Ninguna	M428L/N434S	SJC326	9	SJC321	2
BPC1493	Ninguna	T250Q/M428L	SJC323	15	SJC321	2
BPC1498	Ninguna	V30F	SJC328	18	SJC321	2
BPC1499	cb1-3	Tipo silvestre	SJC336	150	SJC339	147
BPC1500	cb2-44	Tipo silvestre	SJC337	151	SJC340	148
BPC1501	cb2-6	Tipo silvestre	SJC336	150	SJC338	149

EJEMPLO 4

Unión de los anticuerpos al factor de necrosis tumoral alfa en una ELISA de unión directa

Se efectúa una ELISA de unión para evaluar la unión de los anticuerpos expresados purificados utilizando proteína A al factor de necrosis tumoral alfa (TNFα) recombinante. Las placas de ELISA se recubren con TNFα recombinante de humano a 0.1µg/ml y se bloquean con solución para bloqueo (4% de BSA. Se agregan varias diluciones del anticuerpo purificado (diluido en BSA al 4% de en solución salina amortiguada con T Tris a pH8.0 que contiene 0.05% de Tween 20) y la placa se incuba durante 1 hora a temperatura ambiente antes de lavar en agua desionizada. La unión se detecta mediante la adición de un anticuerpo anti-cadena ligera kappa de humano marcado con peroxidasa (Sigma A7164) en solución para bloqueo. La placa se incuba durante 1 hora a temperatura ambiente antes de lavar en agua desionizada. La placa

se revela mediante adición del substrato OPD (Sigma P9187) y el desarrollo de color se detiene mediante adición de 2M HCl. La absorbancia se mide a 490nm con una lectora de placas y la media de la absorbancia se gráfica contra la concentración. Los resultados se muestran en la Figura 1 y confirman que todos los anticuerpos tienen un perfil similar.

EJEMPLO 5

Análisis de anticuerpos en una prueba de neutralización L929 *in vitro*

Esta prueba se utiliza para analizar la capacidad de neutralización de los anticuerpos para neutralizar a TNF-α e inhibir la muerte celular. Brevemente, las células L929 se siembran en una placa de fondo plano de 96 cavidades a 10,000/cavidad en 100 µl de RPMI 1640 (sin rojo de fenol) y se incuban toda la noche a 37ºC, 5% de CO_2. Las células se sensibilizan con 1.25 µg/ml de actinomicina D durante 1 hora. Para el estudio de neutralización, 0.001-60 µg/ml (0.0067-400 nM) del anticuerpo monoclonal anti-TNF-α se pre-incuban con aproximadamente 2 ng/ml (aproximadamente 0.05 nM) de TNF-α en una relación 1:1 durante 1 hora a temperatura ambiente. Para el grupo de control, se utiliza RPMI en lugar del anticuerpo. Después de 1 hora de pre-incubación con actinomicina D, se agregan 20 µl de complejo anticuerpo-antígeno por cavidad. Se agregan 10 ul de medio sólo a las cavidades como un control negativo. Las placas se incuban 18 horas a 37ºC, 5% de CO_2. Después de este periodo de tratamiento, la viabilidad celular se determina mediante un kit para prueba luminiscente de célula titer-Glo de conformidad con las instrucciones del fabricante (Promega, Madison USA). Para la prueba L929, el porcentaje de viabilidad celular de los incógnitos se expresa como un porcentaje del grupo no tratado (tomado como 100%) y los valores de CI50 se determinan mediante Graphpad prism. Las diferencias en los valores de CI50 de los anticuerpos se evalúa mediante ANOVA de una vía (prueba *post hoc* de Newman-Keuls) y se consideran significativas a valores P de menos de 0.05. Los datos se representan como la media ± SEM, de n=4 experimentos medidos por duplicado. Se determinan los valores de CI50 para cada anticuerpo y se listan en la siguiente Tabla 2. Los resultados muestran que la potencia de todos los anticuerpos analizados es comparable.

TABLA 2

Valores de CI_{50} para diversos anticuerpos anti-TNFα en una prueba de neutralización L929

Anticuerpo	Valor de CI_{50} (µg/ml)
BPC1492	1.19 ± 0.10
BPC1494	1.20 ± 0.13
BPC1496	1.18 ± 0.10
Adalimumab	1.09 ± 0.07

La Tabla 3 muestra los valores de CI_{50} obtenidos a partir del experimento. Los resultados indican que los anticuerpos anti-TNFα mejorados (BPC1499, BPC1500, BPC1501) muestran potencia incrementada en esta prueba en comparación con BPC1492 y adalimumab.

TABLA 3

Valores de CI_{50} para anticuerpos anti-TNFα mejorados en una prueba de neutralización L929

Anticuerpo	Valor de CI_{50} (µg/ml)
BPC1492	1.19 ± 0.1
BPC1499	0.21 ± 0.04
BPC1500	0.13 ± 0.02
BPC1501	0.21 ± 0.03
Adalimumab	1.09 ± 0.07

EJEMPLO 6

Efecto de los anticuerpos sobre la liberación de IL-6 *in vitro*

La capacidad de neutralización de los anticuerpos se determina midiendo su efecto sobre la inhibición de la liberación de IL-6 mediada por TNF-α a partir de células sanguíneas enteras. Brevemente, se agregan 130 µl de sangre entera a cada cavidad y las placas se incuban a 37ºC en una incubadora 5% de CO_2 humedecido durante 1 hora. Para el estudio de neutralización, se pre-incuban 0.001-30 µg/ml (0.0067-200 nM) del anticuerpo monoclonal de TNF-α con 10 ng/ml (aproximadamente 0.4 nM)

de TNF-alfa en una relación 1:1 durante 1 hora a 4ºC. Para el grupo de control, se utiliza RPMI en lugar del anticuerpo. Después de este pre-tratamiento, se agrega 20 µl de complejo antígeno-anticuerpo o RPMI (control negativo) por cavidad y las placas se incuban durante 24 horas a 37ºC, 5% de CO_2. Se agregan 100 µl de PBS (sin $MgCl_2$ o $CaCl_2$) a cada cavidad y se colocan en la agitadora de placas durante 10 minutos a 500 rpm. Las placas después se centrifugan a 2000 rpm durante 5 minutos. Se retiran cuidadosamente 120 µl de sobrenadante y se transfieren a una placa de fondo redondo de 96 cavidades nueva y se determina a la liberación de IL-6 utilizando un kit para prueba basado en MSD (Meso Scale Diagnostics, Maryland EE.UU.). Para la prueba de sangre entera, la señal de MSD para cada muestra se le utilizando un aparato MSD SECTOR® Imager 2400 y la liberación de IL-6 desde las células se cuantifica utilizando un paquete para análisis de datos estándar en el software PRISM 4.00 (GraphPad. San Diego, EE.UU.). El porcentaje de inhibición de IL-6 por cada anticuerpo se expresa como un porcentaje del grupo tratado con TNF-α solo. Por lo tanto, se obtienen las curvas de dosis-respuesta para cada anticuerpo y se determinan los valores de CI_{50}. Utilizando el logaritmo de los valores de CI_{50}, se determina la diferencia en potencia de los anticuerpos mediante ANOVA de una vía (prueba *post hoc* de Newman-Keuls) y se considera significativa a valores de P de menos de 0.05 para cada donador (n=3). Los datos se representan como la media ± SEM de tres donadores, medidos por duplicado.

La siguiente Tabla 4 muestra los valores de CI_{50} obtenidos a partir de estos datos. Estos resultados sugieren que no hay diferencia significativa en la potencia entre los anticuerpos analizados.

TABLA 4

Valores de CI_{50} para diversos anticuerpos anti-TNF en una prueba de liberación de IL-6 inducida por TNF-α

Anticuerpo	Valor de CI_{50} (nM)
BPC1492	0.72 ± 0.32
BPC1494	0.62 ± 0.11
BPC1496	0.64 ± 0.13
Adalimumab	0.47 ± 0.09

Los valores de CI_{50} se muestran en la Tabla 5. Los resultados indican que los anticuerpos anti-TNFα mejorados (BPC1499, BPC1500, BPC1501) muestran potencia incrementada en esta prueba.

TABLA 5

Valores de CI_{50} para diversos anticuerpos anti-TNFα mejorados en una prueba de liberación de IL-6 inducida por TNF-α

Anticuerpo	Valor de CI_{50} (nM)
BPC1492	0.72 ± 0.32
BPC1494	0.62 ± 0.12
BPC1499	0.14 ± 0.02
BPC1500	0.11 ± 0.05
BPC1501	0.15 ± 0.03
Adalimumab	0.47 ± 0.09

EJEMPLO 7

Estudios de tensionante acelerado

Antes del estudio, los anticuerpos que se van a analizar se cuantifican en un espectrofotómetro a DO280nm y se diluyen hasta 1.1mg ml en PBS (pH 7.4). Se retira una alícuota y se agrega 10% v/v de acetato de sodio 500 mM para dar una concentración final de 1mg/ml a pH 5.5 y la muestra se inspecciona para precipitación. A la muestra remanente en PBS se le agrega 10% de PBS v/v hasta una concentración final de 1mg/ml a pH 7.4 y se retira una alícuota de esta muestra para proveer un nivel de agregación de línea basal (según se monitorea mediante cromatografía por exclusión de tamaño). Las muestras se incuban después a 37ºC durante dos semanas en una incubadora, después de lo cual las muestras se vuelven a cuantificar en un espectrofotómetro a DO280nm y se evalúan (mediante cromatografía por exclusión de tamaño) respecto a agregación. Las muestras se analizan para unión a TNFα de humano en una ELISA de unión directa. Los resultados se muestran en la Figura 2 y confirman que la actividad de unión de todos los anticuerpos analizados es comparable después del estudio de tensionante (stressor) acelerado.

EJEMPLO 8
Estudio de estabilidad en 25% de suero de humano

Antes del estudio, los anticuerpos que se van a analizar se cuantifican en un espectrofotómetro a DO280nm y se diluyen hasta 1.25 mg/ml en PBS (pH 7.4). Se retira una alícuota y se agrega 25% v/v de suero de humano para dar una concentración final de 1 mg/ml. A la muestra remanente en PBS se le agrega 25% de PBS v/v hasta una concentración final de 1 mg/ml y se retira una alícuota de esta muestra para proveer un nivel de línea basal. Las muestras se incuban después a 37ºC durante dos semanas en una incubadora, después de lo cual las muestras se analizan respecto a unión a TNFα de humano en una ELISA de unión directa. Los resultados se muestran en la Figura 3 y confirman que la actividad de unión de todos los anticuerpos analizados es comparable después de la incubación en 25% de suero de humano durante dos semanas.

EJEMPLO 9
Análisis de unión a TNFα de humano después de congelar-descongelar

Las muestras de anticuerpo se diluyen hasta 1 mg/ml en solución amortiguadora que contiene acetato 50 mM y NaCl 150 mM (pH 6.0), se congela instantáneamente en hielo seco y después se descongela a 4ºC durante toda la noche. La unión de los anticuerpos a TNFα de humano se analiza mediante comparación con un anticuerpo que no ha sido congelado instantáneamente. Para evaluar la actividad de unión después de congelar-descongelar, las placas ELISA se recubren con TNFα recombinante de humano a 1µg/ml y se bloquean con solución para bloqueo (4% de BSA en solución salina amortiguada con). Se agregan diversas concentraciones a las placas recubiertas y se incuban durante 1 hora a temperatura ambiente antes de lavar en agua desionizada. La unión se detecta mediante la adición de un anticuerpo anti-cadena ligera kappa de humano marcado con peroxidasa (Sigma A7164) en solución para bloqueo. La placa se incuba durante 1 hora a temperatura ambiente antes de lavar en agua desionizada. La placa se revela mediante adición del substrato OPD (Sigma P9187) y el desarrollo de color se detiene mediante adición de HCl 2M. La absorbancia se mide a 490nm con una lectora de placas y la

media de la absorbancia se gráfica contra la concentración. Los resultados se muestran en la Figura 4 y confirman que la actividad de unión de todos los cuerpos analizados es comparable después de congelar-descongelar.

EJEMPLO 10

Análisis de unión de anticuerpos anti-TNFα a FcγRIIIa

Las placas ELISA se recubren con FcγRIIIa recombinante de humano (variantes V158 y F158) a 1 µg/ml y se bloquean con solución para bloqueo (4% de BSA en solución salina amortiguada con Tris). Se agregan diversas concentraciones a las placas recubiertas y se incuban durante 1 hora a temperatura ambiente antes de lavar en agua desionizada. La unión se detecta mediante la adición de un anticuerpo anti-cadena ligera kappa de humano marcado con peroxidasa (Sigma A7164) en solución para bloqueo. La placa se incuba durante 1 hora a temperatura ambiente antes de lavar en agua desionizada. La placa se revela mediante adición del substrato OPD (Sigma P9187) y el desarrollo de color se detiene mediante adición de HCl 2M. La absorbancia se mide a 490 nm con una lectora de placas y la media de la absorbancia se gráfica contra la concentración. Los resultados se muestran en la Figuras 5a y 5b y confirman que BPC1494 tiene capacidad reducida para ligar a FcγRIIIa (variantes V158 y F158) en comparación con BPC1492 y BPC1496.

EJEMPLO 11

Análisis ProteOn: unión a FcRn

Los anticuerpos para análisis se inmovilizan a niveles similares en un chip biosensor GLC (BioRad 176-5011) mediante copulación de amina primaria. Se utilizan FcRn recombinante de humano y de cynomolgus como analitos a 2048 nM, 512 nM, 128 nM, 32 nM, y 8 nM, se utiliza una inyección de solución amortiguadora sola (es decir 0 nM) para doble referencia de las curvas de unión. La regeneración de la superficie del anticuerpo después de la inyección de FcRn utiliza HBS-N a pH 9.0, la prueba se corre en el sistema de arreglo de interacción de proteína ProteOn XPR36 a 25ºC y se corre en HBS-N pH 7.4 y HBS-N pH 6.0 con el FcRn diluido en la solución amortiguadora apropiada. Las afinidades se calculan utilizando el modelo de equilibrio, inherente al software de análisis ProteOn,

utilizando una “R-max global” para unión a pH 6.0 y la R-max de la unión a pH 6.0 para el cálculo de afinidad a pH 7.4. Debido a que las curvas de unión no alcanzan la saturación a pH 7.4, es poco probable que los valores obtenidos sean afinidades verdaderas, sin embargo éstos se pueden utilizar para clasificar las construcciones. Los resultados se muestran en la Tabla 6 y confirman que BPC1494 y BPC1496 tienen una afinidad mejorada para FcRn de humano y de cynomolgus a pH 6.0 cuando se comparan con BPC1492.

TABLA 6

Afinidades de las construcciones anti-TNF alfa que se unen a FcRn de humano y de Cynomolgus

Número BPC	Humano pH 6.0 KD (nM)	Humano pH 7.4 KD (nM)	Cyno pH 6.0 KD (nM)	Cyno pH 6.0 KD (nM)
BPC1492	554	21200	579	29700
BPC1494	204	2320	239	2640
BPC1496	144	1910	154	2100
BPC1497	428	15500	464	20800
BPC1498	357	5910	402	6280
BPC1493	264	4390	295	4690

EJEMPLO 12

Estudios farmacocinéticos en ratones transgénicos FcRn de humano

En un estudio farmacocinético de dosis individual, BPC1494 y BPC1492 se administran por vía intravenosa (IV) a 1 mg/kg a dos cepas diferentes de ratones humanizados con FcRn y una cepa deficiente en FcRn (Petkova et al. *Int. Immunol* (2010) 18(12): 1759-1769). Las muestras de plasma se analizan respecto a BPC1494 o BPC1492, según sea apropiado, utilizando una prueba inmunológica fluorescente Gyrolab validada.

Los métodos utilizan TNF alfa de humano conjugado con biotina como el antígeno de captura y un anticuerpo anti-IgG de humano (específico de Fc) marcado con Alexa como el anticuerpo de detección. Utilizando una alícuota de plasma de ratón diluido 1:10 con solución amortiguadora para prueba, el límite inferior de cuantificación (LLQ) es 100 ng/ml y el límite superior de cuantificación (HLQ) es 100,000 ng/ml. Las

concentraciones de plasma por debajo de los patrones de referencia más bajos se consideran como no cuantificables. Las muestras de control de calidad preparadas a tres concentraciones diferentes y almacenadas con las muestras de estudio, se analizaron con cada lote de muestras contra patrones de referencia para calibración preparados por separado. Para que el análisis sea aceptable, por lo menos una muestra de control de calidad en cada concentración no se debe desviar de la concentración nominal en más de 20%. Los resultados de control de calidad de este estudio cumplen estos criterios de aceptación.

El análisis farmacocinético se efectúa mediante análisis farmacocinético no compartimental utilizando WinNonLin, versión 6.1. Todos los cálculos utilizan los tiempos de muestreo de sangre nominales. La exposición sistémica a BPC1494 y BPC1492 se determina calculando el área bajo la curva (ABC) de concentración en plasma-tiempo desde el inicio de la dosificación hasta el último punto de tiempo cuantificable (ABC_{0-t}) utilizando el método de cálculo trapezoidal logarítmico lineal. No se pudieron obtener parámetros farmacocinéticos adicionales a partir de los datos debido a discrepancias en el marcado de las muestras.

TABLA 7

Sumario de los parámetros farmacocinéticos para BPC1494 y BPC1492 después de una administración intravenosa individual (bolo) a una dosis objetivo de 1 mg/kg a ratones transgénicos

Compuesto	Cepa	Cmáx (ug/ml)	ABC (hr*ug/ml)
BPC1494	1	13.8	2240
BPC1492		14.8	1730
BPC1494	2	12.0	1320
BPC1492		13.2	1060
BPC1494	3	13.6	214
BPC1492		12.2	250

Cepa 1 = mFcRn-/- hFcRn (32) Tg/Tg

Cepa 2 = mFcRn-/- hFcRn (276) Tg/Tg Rag1-/-

Cepa 3 = mFcRn -/-/Rag1-/-

Se obtienen concentraciones Cmáx similares para todos los grupos. En ambas cepas de ratón con expresión activada (knock-in) de FcRn de humano BPC1494 tiene una exposición más alta (ABC_{0-t}) que BPC1492, aunque esta diferencia no es notable (1.3 veces). En ausencia de FcRn tanto de humano como de ratón BPC1492 tiene una exposición más alta que BPC1494.

EJEMPLO 13

Clonación de vectores de expresión de anticuerpo en vectores pEF

En algunos casos, el ADN que codifica para los cassettes de expresión para las cadenas pesada y ligera se cortan de los vectores descritos en el Ejemplo 3 utilizando *HindIII* y *EcoRI* y se clonan en vectores pEF, en donde la expresión ocurre a partir del promotor hEF1a, utilizando técnicas estándar de biología molecular (para la descripción de los vectores véase Kotsopoulou et al *J. Biotechnol* (2010) 146: 186-193).

TABLA 8

Código BPC	Modificación de Fc	Vectores de expresión de la cadena pesada	Vector de expresión de la cadena ligera	SEQ ID No. de la cadena pesada	SEQ ID No. de la cadena ligera
BPC1492	Ninguna	SJC330	SJC329	12	2
BPC1494	M252Y/S254T/T256E	SJC331	SJC329	5	2
BPC1496	M428L/N434S	SJC332	SJC329	9	2

EJEMPLO 14

Expresión de anticuerpos en células CHO utilizando los vectores de expresión pEF

Los plásmidos de expresión que codifican para las cadenas pesada y ligera se co-transfectan en células CHO DG44 y se expresan a

escala para producir anticuerpo. Para la generación de BPC1492 se utilizan los plásmidos SJC329 y SJC330. Para la expresión de BPC1494 se utilizan los plásmidos SJC329 y SJC331. Para BPC1496 se utilizan los plásmidos SJC329 y SJC332.

Brevemente, 30µg de ADN (15µg de la cadena pesada y 15 µg de la cadena ligera) se linealizan durante la noche con la enzima de restricción *Not1*. El ADN restringido resultante se precipita después con etanol y se vuelve a disolver en solución amortiguadora TE. A partir del cultivo, se obtienen 6 x 10^6 células CHO DG44 y se lavan en 10 ml de PBS. El comprimido celular se vuelve a suspender después en 300 µl de solución V de Amaxa. 100 µl de la suspensión celular antes mencionada se agregan después dentro de cada una de las tres celdas Amaxa, las cuales también contienen 3 µg del ADN linealizado. Las celdas se insertan dentro de un dispositivo Amaxa nucleofector II y se someten a electroporación con el programa pre-ajustado U-023. Los contenidos de las tres celdas (300 µl) de células sometidas a electroporación se agregan a 10 ml de medio MR14 tibio (incluyendo los nucleósidos y BSA) y se incuban en un matraz T75 durante 48 horas. Después de este periodo, el medio se cambia a MR14 libre de nucleósido (MR14 que contiene solamente BSA)). Cada 3-4 días, se retira el medio condicionado y se remplaza con medio para selección nuevo. Una vez que las células han experimentado recuperación, el medio se sustituye a 2X MR14 y la expresión de IgG se confirma mediante nefelometría. Matraces de agitación de 2 litros se siembran con 1 litro de las células que expresan a IgG a 0.6 x 10^6/ml y se cultivan durante 7 días. Las células se separan del sobrenadante mediante centrifugación y el sobrenadante se utiliza para purificación de proteína.

1 litro de los sobrenadantes del cultivo celular se purifica utilizando un proceso automatizado de 2 pasos en un sistema AKTA Xpress. El anticuerpo se captura en una columna MabSelectSure de 5 ml y después se lava antes de la elución. El anticuerpo eluido se carga después en una columna para filtración en gel Superdex 200 de 440 ml y se recolectan fracciones de 2 ml en un bloque de 96 cavidades. Las fracciones de anticuerpo purificado se combinan y se filtran a 0.2 µm y después se concentran hasta aproximadamente 5 mg/ml utilizando concentradores centrífugos Amicon. El material final se filtra de nuevo a 0.2 µm y después se dispensa en tubos estériles para suministro. El material final se somete a SEC analítica para determinar la agregación, una prueba con endotoxina,

LC-MS para determinación exacta de la masa (incluidos PNGasaF y material no tratado para determinar la glucosilación), electroforesis SDS PAGE, PMF para confirmación de secuencia y A280 para determinación de la concentración.

EJEMPLO 15

Método alternativo para expresión de anticuerpos en células CHO utilizando los vectores de expresión pEF

Las células CHO DG44 DHFR-nulas se obtienen del Dr. Chasin de la Universidad de Columbia. Estas células posteriormente se adaptan a un medio químicamente definido. Estas células hospederas adaptadas se designan DG44-c y se cultivan en medio químicamente definido patentado suplementado con Glutamax y suplemento HT.

Generación de la mezcla policlonal: para mayores detalles sobre los protocolos véase documentos WO2009024567 y Kotsopoulou et al, J. Biotechnol (2010) 164(4): 186-193. Brevemente, las células DG44-c se transfectan con los plásmidos que codifican para las cadenas pesada y ligera y DHFR y neoR respectivamente mediante electroporación (utilizando el sistema Amaxa nucleofector). A las 48 horas después de la transfección, la selección se inicia mediante adición de G418 (a una concentración final de 400 µg/ml) y remoción de HT. Cuando la viabilidad y los conteos celulares se incrementan lo suficiente (en este caso 2 meses después de la transfección) se agrega metotrexato (MTX) a una concentración final de 5 nM. Las células se escalan y las curvas de producción se inician 9-16 días después de la adición de MTX. Para estas curvas de producción las células se siembran a 0.6-0.8 x 10^6 células/ml en medio químicamente definido y se alimentan en los días 6, 9 ó 10, 12 ó 13 y/o 16. El sobrenadante se recolecta cuando la viabilidad cae hasta aproximadamente 50% y las células se retiran mediante centrifugación a 4000 g durante 30 minutos seguido por filtración a través de una cápsula sartobran.

Los anticuerpos se purifican a temperatura ambiente utilizando un procedimiento cromatográfico de dos pasos: la captura inicial se efectúa utilizando una columna MabSelect SuRe de 50 ml (GE Healthcare) seguido por cromatografía por exclusión de tamaño (SEC) con un SEC de1.5 litros Superdex de 200 pg (GE Healthcare). El medio condicionado se carga en una columna MabSelect SuRe previamente equilibrada a una velocidad de flujo de 9 m^3/h. Después del lavado hasta línea basal con solución

amortiguadora para equilibrio (Tris 50mm pH 8.0, NaCl 2M) la columna se lava con una solución amortiguadora con bajo contenido de sal (50 mM NaCl Tris pH 8.0, NaCl 150 mM) hasta que la conductividad es estable. La columna después se eluye con solución amortiguadora para elución (Citrato 25mM pH 2.5). Las fracciones correspondientes a la elución máxima de proteína se neutralizan inmediatamente con 1/10 del volumen de 1.0M Tris pH 8.0 las cuales después se combinan y filtran a través de un filtro con botella superior de 0.2 µm. La muestra recuperada se carga a 21 m^3/h en una columna SEC previamente equilibrada con solución amortiguadora para SEC (Acetato de sodio 50 mM, NaCl 150mM). Las fracciones que contienen el pico de proteína principal (monomérico) se combinan y se esterilizan por filtración.

Los anticuerpos preparados mediante este método se utilizan para estudios de comparabilidad analítica presentados en forma resumida en el siguiente ejemplo.

EJEMPLO 16

Comparabilidad analítica en muestras de control y muestras estresadas

Se efectúa cromatografía por exclusión de tamaño para determinar los niveles de agregación de la proteína. El método optimizado implica inyección de la muestra en una columna TOSOH TSK G3000SWXL la cual ha sido equilibrada en fosfato de sodio 100 mM, NaCl 400 mM, pH 6.8. La absorbancia se mide tanto a 280 nm como a 214 nm. La HPLC de fase inversa separa las proteínas y sus isoformas basándose en el carácter hidrofóbico. PLRP-S 1000 °A 8 µm y se eluye utilizando un gradiente producido por 50% de ácido fórmico, y 95% de acetonitrilo. La absorbancia se mide a 280 nm. La pureza de la molécula se reporta como un porcentaje del área de pico principal con relación al área de pico total. Las diferentes isoformas del anticuerpo monoclonal se separan con base a sus valores pI utilizando enfocamiento isoeléctrico capilar (cIEF). La separación con IEF se efectúa en un capilar de cartucho transparente a UV 280 de 10 cm. El método optimizado incluye una solución que contiene 5% de anfolitos a pH 3-10, NaOH 10mM, la proteína de interés y los marcadores de pI internos (7.05 y 9.5) la cual se carga en el capilar mediante inyección a presión.

La actividad específica de los anticuerpos (adalimumab, BPC1494, BPC1496) se determina utilizando MSD. En breve, placas de 96

cavidades se recubren con 50 µl por cavidad de TNFα diluido a 1 µg/ml en PBS. La placa se incuba en la parte superior del banco a temperatura ambiente sin agitación durante 2 horas. Se retira la solución de recubrimiento y la placa se bloquea con 50 µl por cavidad de BSA al 1% en PBS, con 0.05% de polisorbato 20. La placa se incuba durante 1 hora a 24ºC con agitación a 400 rpm y después se lava 4 veces con solución amortiguadora para lavado. Los anticuerpos se diluyen en BSA al 0.1% en PBS con 0.05% de polisorbato 20 y a la placa se agregan 30 µl de cada muestra. La placa se incuba durante 1 hora a 24ºC con agitación a 400 rpm. La placa después se lava 4 veces con solución amortiguadora para lavado. Sulfotag anti-IgG de humano se diluye 1 en 5000 en solución amortiguadora para prueba. Se agregan 30 µl a cada cavidad de la placa y después se incuban durante 1.5 horas a 24ºC, con agitación a 400 rpm. La placa después se lava 4 veces con solución amortiguadora para lavado. El concentrado de solución amortiguadora para lectura 4x MSD se diluye hasta 1x utilizando agua desionizada. Después se agregan 100 µl por cavidad de la placa. La placa se lee después utilizando el instrumento MSD Sector Imager. A partir de las señales obtenidas de la prueba, se calculan las actividades específicas de las moléculas.

Análisis de desamidación

La desamidación es una modificación común posterior a la traducción que puede ocurrir a los residuos asparagina y glutamina, pero es observada más comúnmente con los residuos asparagina, particularmente cuando está adyacente a un residuo glicina. Con el fin de examinar qué tan susceptibles son estos residuos y para determinar los efectos de la desamidación sobre la potencia, adalimumab, BPC1494 y BPC1496 se exponen a un estudio de estrés. El estrés se efectúa mediante incubación en bicarbonato de amonio al 1% a pH 9.0, durante 48 horas, condiciones que previamente han demostrado ocasionar la desamidación. Las muestras estresadas se incuban junto con un control (en PBS) y se comparan con éste así como con una referencia no estresada y se analizan utilizando c-IEF, SEC y ELISA de unión. La desamidación forzada también se efectúa en todas las muestras en presencia y ausencia de EDTA. Brevemente se ha demostrado que las condiciones de desamidación forzada causan fragmentación además de desamidación. El EDTA evita y o reduce al mínimo la fragmentación.

Análisis de oxidación

La oxidación de diversos residuos puede ocurrir a través de todo el procesamiento y almacenamiento de las proteínas; sin embargo el residuo más comúnmente oxidado es metionina, la cual es el foco de esta selección. La susceptibilidad a la oxidación de estos residuos se examina a través de exposición a condiciones de estrés mediante incubación en H_2O_2 5 mM y 50 mM durante 30 minutos y se evalúa utilizando RP-HPLC, SEC y ELISA.

Sumario de resultados

Tanto BPC1494 como BPC1496 se comportan de manera muy favorable en comparación con adalimumab como se muestra mediante comparabilidad analítica tanto en muestras de control como en muestras estresadas. Para todos los anticuerpos analizados, no se observa degradación significativa bajo condiciones de oxidación forzada como se muestra mediante toda las técnicas analíticas empleadas. La desamidación significativa según se mide mediante c-IEF se observa a pH 9.0 como se esperaba para todos los anticuerpos analizados. Además se observa fragmentación significativa para todos los anticuerpos analizados tal como se muestra mediante SEC a pH 9.0 en muestras sin EDTA, esto también es como se esperaba. Hay una reducción en el valor de pI, (aproximadamente 0.2) de BPC1494 cuando se comparan con adalimumab. Esto se atribuye a la presencia de un residuo adicional de ácido glutámico en la secuencia de la cadena pesada del BPC1494 haciéndolo por lo tanto más ácido. La desamidación y oxidación forzadas tienen un impacto mínimo sobre la unión y esto se observa para BPC1494, BPC1496 y adalimumab.

EJEMPLO 17

Análisis de unión de los anticuerpos mejorados mediante ELISA

Los anticuerpos BPC1499, 1500 y 1501 se evalúan respecto a la actividad de unión mediante ELISA como se describe en el Ejemplo 4. Utilizando dos concentraciones diferentes de recubrimiento de antígeno (0.1 y 1.0 µg/ml), los anticuerpos no muestran ninguna diferencia en sus perfiles de unión cuando se comparan con BPC1492. Bajo las condiciones analizadas, parece ser que la prueba ELISA no discrimina entre anticuerpos con diferentes actividades de unión reportadas. Los mismos anticuerpos se

evalúan utilizando las metodologías descritas en los Ejemplos 18, 5 y 6 las cuales son consideradas pruebas más sensibles. En estas pruebas, los anticuerpos BPC1499, 1500 y 1501 muestran afinidad de unión mejorada y potencia mejorada cuando se comparan con BPC1492.

EJEMPLO 18

Análisis Biacore de unión a TNF alfa utilizando una superficie de captura

Proteína A y anti-IgG de humano (GE Healthcare BR-1008-39) se acoplan en celdas de flujo separadas en un chip biosensor CM3. Estas superficies se utilizan para capturar los anticuerpos para análisis de unión. Se utiliza TNF alfa recombinante de humano y de cynomolgus como analitos a 64 nM, 21.33 nM, 7.11 nM, 2.37 nM, 0.79 nM, una inyección de solución amortiguadora sola (es decir 0 nM) utilizada para doble referencia de las curvas de unión. La regeneración de la superficie de captura se efectúa utilizando ácido fosfórico 100 mM y $MgCl_2$ 3M. La corrida se efectúa en la máquina Biacore T100 a 37ºC utilizando HBS-EP como la solución amortiguadora para corrida. Las construcciones BPC1494 y BPC1496 mostraron unión reducida a la superficie de Proteína A y a la superficie de anti-IgG de humano haciendo estas superficies inadecuadas para generar cinética para dichas moléculas.

TABLA 9

Análisis cinético de unión de TNF alfa de humano y de cynomolgus a los anticuerpos anti-TNF alfa capturados

Construcción	Analito	Superficie de captura	ka(1/Ms)	kd(1/s)	KD(nM)
BPC1492	TNFα de humano	Proteína A	2.12E+06	1.10E-04	0.05196
BPC1494	TNFα de humano	Proteína A	Datos	No	Analizables
BPC1496	TNFα de humano	Proteína A	Datos	No	Analizables
BPC1500	TNFα de humano	Proteína A	2.68E+06	4.19E-05	0.01561
BPC1492	TNFα de humano	Anti-IgG de humano	6.78E+06	1.73E-04	0.02554
BPC1494	TNFα de humano	Anti-IgG de humano	Datos	No	Analizables
BPC1496	TNFα de humano	Anti-IgG de humano	Datos	No	Analizables
BPC1500	TNFα de humano	Anti-IgG de humano	4.51E+06	7.07E-05	0.01568

TABLA 9 (cont.)

Construcción	Analito	Superficie de captura	ka(1/Ms)	kd(1/s)	KD(nM)
BPC1492	TNFα de Cyno	Proteína A	1.10E+06	1.11E-04	0.101
BPC1494	TNFα de Cyno	Proteína A	Datos	No	Analizables
BPC1496	TNFα de Cyno	Proteína A	Datos	No	Analizables
BPC1500	TNFα de Cyno	Proteína A	2.34E+06	3.51E-05	0.01503
BPC1492	TNFα de Cyno	Anti-IgG de humano	1.96E+06	3.75E-04	0.1911
BPC1494	TNFα de Cyno	Anti-IgG de humano	Datos	No	Analizables
BPC1496	TNFα de Cyno	Anti-IgG de humano	Datos	No	analizables
BPC1500	TNFα de Cyno	Anti-IgG de humano	4.48E+06	2.09E-04	0.04667

EJEMPLO 19

Análisis de unión con la prueba inversa ProteOn

TNF alfa conjugado con biotina se mezcla con BSA conjugada con biotina a una relación 1:49, a una concentración final de proteína total de 20 µg/ml (es decir 0.4 µg de TNF alfa conjugado con biotina y 19.6 µg de BSA conjugada con biotina). Esta mezcla se captura en un chip biosensor NLC (una sola celda de flujo) (Biorad 176-5021). La superficie del chip se acondiciona con glicina 10 mM, pH 3.0 hasta que se logra una señal estable. Los anticuerpos que se van a analizar se utilizan como analitos a 256 nM, 64 nM, 16 nM, 4 nM y 1 nM y 0 nM. Las curvas de unión son referidas a una celda de flujo recubierta con BSA conjugada con biotina sola. La regeneración se logra utilizando glicina 10 mM, pH 3.0. Los datos se ajustan al modelo 1:1 inherente al software de análisis ProteOn.

TABLA 10

Cinética aparente de anticuerpos anti-TNF alfa que se unen a TNF alfa capturado con neutravidina

Número BPC	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (nM)
BPC1499	2.27E+06	1.72E-05	0.008
BPC1500	2.06E+06	3.00E-05	0.015
BPC1501	1.17E+06	6.97E-05	0.06
BPC1496	6.33E+05	4.04E-04	0.639
BPC1494	7.23E+05	3.50E-04	0.484
BPC1492	7.89E+05	3.21E-04	0.407

Estos datos son el conjunto uno de dos experimentos que fueron efectuados (el segundo conjunto no se muestra). La clasificación de KD de los datos es representativa de ambos conjuntos de datos.

EJEMPLO 20

Construcción de anticuerpos alternativos que se unen a TNFα de humano

Las construcciones de expresión de ADN que codifican para regiones pesadas variables adicionales con modificaciones en las regiones CDR (como se describe en Rajpal et al. PNAS (2005) 102(24): pg 8466-8471) se preparan de novo mediante acumulación de oligonucleótidos traslapantes y técnicas de biología molecular similares a aquellas descritas en el Ejemplo 1. Los ejemplos de secuencias de AND que codifican para los dominios pesados variables de estos anticuerpos variantes se dan en SED IQ NO: 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93 y 95. Las construcciones de expresión de ADN que codifican para las regiones de dominio ligero variable con modificaciones en las regiones CDR (como se describe en Rajpal et al. PNAS (2005) 102(24): pg 8466-8471) se preparan de novo mediante acumulación de oligonucleótidos traslapantes y técnicas de biología molecular similares a aquellas descritas en el Ejemplo 1. Los ejemplos de secuencias de ADN que codifican para los dominios ligeros variables de estos anticuerpos variantes se dan en SED IQ NO: 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 129, 131, 133, 135 y 137. Una vez construidos, los plásmidos de expresión que codifican para

las cadenas pesada y ligera se co-transfectan de manera transitoria en células HEK 293 6E. Los anticuerpos expresados se purifican a partir del sobrenadante y se evalúan respecto a la actividad utilizando métodos similares a aquellos descritos en el Ejemplo 6.

EJEMPLO 21

Construcción de vectores de expresión para BPC2604 (Pascolizumab-YTE)

Las construcciones de expresión de ADN basadas en pTT que codifican para la cadena pesada de pascolizumab se diseñan para que incluyan los siguientes cambios M252Y/S254T/T256E (numeración del índice UE) utilizando el protocolo Quikchange (Promega).

EJEMPLO 22

Expresión/purificación de vectores Pasco y Pasco-YTE

Los plásmidos de expresión que codifican para las cadenas pesada y ligera de BPC2604 se co-transfectan de manera transitoria en células HEK 293 6E. El anticuerpo expresado se purifica a partir del sobrenadante a granel utilizando una purificación de dos pasos efectuada mediante cromatografía de afinidad y SEC utilizando una columna MabSelectSure de 5 ml y una columna Superdex 200 en un AKTA Xpress.

EJEMPLO 23

Análisis BIAcore de Pasco contra Pasco YTE para unión a FcRn

Los anticuerpos se inmovilizan en un chip GLM (20 µg/ml en acetato pH 4.5) mediante copulación de amina primaria. Los receptores de FcRn de humano, de cynomolgus, de rata y de ratón se utilizan a 2048, 512, 128, 32 y 8 nM. 0 nM se utiliza para doble referencia. La prueba se efectúa en HBS-EP pH 7.4 y HBS-EP pH 6.0 (receptor FcRn diluido en la solución amortiguadora para corrida apropiada para cada pH. La superficie se regenera para unión a FcRn con Tris 200 mM pH 9.0. Los datos se ajustan a un modelo de equilibrio, con R-max ajustada a la R-max más alta obtenida de cualquier construcción. Los resultados se muestran en la siguiente Tabla 11 y confirman que el pascolizumab modificado con YTE

(BPC2604) muestra unión mejorada a FcRn a pH 6.0 en comparación con pascolizumab.

TABLA 11

Afinidades de construcciones de anticuerpo anti-IL-4 para FcRn de humano y de cynomolgus

		KD (nM) a pH6.0: R-max = 1020				KD (nM) a pH7.4: R-max = 1020			
Anticuerpo	Modificación de Fc	FcRn de humano	FcRn de cynomolgus	FcRn de ratón	FcRn de rata	FcRn de humano	FcRn de cynomolgus	FcRn de ratón	FcRn de rata
BPC2604	M252Y/S254T/T256E	98	92.1	53.4	66.0	11600	11100	2160	4330
Pascolizumab	ninguna	541	505	205	228	n.a.b	n.a.b	n.a.b	n.a.b

n.a.b. = unión no analizable

EJEMPLO 24

Estudios farmacocinéticos con Pasco contra Pasco-YTE

La Figura 6 muestra las concentraciones promedio en plasma normalizadas por dosis de pascolizumab-YTE (BPC2604)) en monos cynomolgus hembra y pascolizumab en monos cynomolgus macho después de una administración intravenosa individual (1 hora de infusión) a una dosis objetivo de 1 mg/kg. Los datos para BPC2604 y pascolizumab se generan en estudios separados. Las concentraciones de anticuerpo en plasma para pascolizumab y BPC2604 se evalúan mediante ELISA con quimio-luminiscencia utilizando IL-4 como el reactivo de captura y el conjugado de anti-IgG de humano (específico de Fc)-HRP como el reactivo de detección. El intervalo validado para la prueba es de 50-5000 ng/ml. Los resultados se muestran en la Figura 6. Ambos compuestos tienen Cmáx similares pero BPC2604 tiene una depuración en plasma 3 veces más baja lo que da como resultado un incremento de 3 veces en el ABC y un incremento de 2 veces en el tiempo de vida media (T½).

EJEMPLO 25

Estudios de formulación a 5 mg/ml

Se compara la estabilidad de adalimumab y de la variante BPC1494 de TNF-alfa en dos formulaciones. La Formulación “A” (solución amortiguadora de citrato-fosfato) es la formulación de adalimumab comercializada constituida por 6.16 mg/ml de cloruro de sodio + 0.30 mg/ml de citrato de sodio monobásico + 1.30 mg/ml de ácido cítrico monohidratado + 12 mg/ml de manitol + 0.86 mg/ml de fosfato de sodio monobásico dihidratado + 1.53 mg/ml de fosfato de sodio dibásico dihidratado + 1.0 mg/ml de PS80 a pH 5.2.

La Formulación “B” (solución amortiguadora de acetato) está constituida por 6.81 mg/ml (50 mM) de acetato de sodio trihidratado + 10 mg/ml (1% p/v) de arginina + 0.0186 mg/ml (0.05mM) de EDTA + 2.98 mg/ml (51mM) de cloruro de sodio + 0.2 mg/ml (0.02% p/v) de Polisorbato 80, ajustada a pH pH 5.5 utilizando HCl o NaOH.

El material de la variante BPC1494 de TNF-alfa utilizado en este estudio se elabora en una línea celular de ovario de hámster chino (CHO DG44) y se purifica utilizando un procedimiento de dos pasos que

implica mAb Select Sure seguido por columna Superdex 200pg. Se utiliza adalimumab (código de producto NDC 0074-3799-02, número de lote 91073LX40) fabricado por Abbott Laboratories.

El adalimumab se vuelve a reformular en la Formulación “B” mediante diálisis nocturna a 5ºC utilizando un cassette Slide-A-Lyzer de 10 KDa (Número de producto 66830, número de lote LJ150514); producido por Thermo Scientific (Rockford, IL; EE.UU.). Este experimento se efectúa en un punto de tiempo diferente al de las otras tres formulaciones. Ambos adalimumab en las Formulaciones “A” y “B” se diluyen hasta 5 mg/ml utilizando sus respectivas soluciones amortiguadoras para formulación. La molécula de la variante BPC1494 de TNF-alfa también se formulan en las Formulaciones A y B aproximadamente a 5 mg/ml. Un total de 4 muestras se filtran a través de un filtro MillexGV de 0.22 um bajo una condición de flujo laminar limpio antes de ser transferidas a viales de vidrio pre-esterilizados etiquetados e incubadas a 5ºC, 25ºC y 40ºC hasta por 14 semanas. Las muestras se toman en los puntos de tiempo seleccionados y se analizan utilizando SEC-HPLC (Tabla 12), cIEF (Tabla 13). También se efectúan otras pruebas como las descritas más adelante para evaluar la estabilidad de los anticuerpos.

Apariencia mediante observación visual

Las muestras se inspeccionan respecto a claridad bajo condiciones de luz diurna. Ambos anticuerpos en cada formulación permanecen sin cambio (solución incolora transparente) después de 14 semanas de almacenamiento a 5ºC, 25ºC y 40ºC.

Medición de la concentración de proteína (A280nm)

La concentración de proteína se mide utilizando un espectrómetro de nanogota, lo cual es indicativo de la estabilidad de la proteína. El coeficiente de extinción para adalimumab es 1.46 y para la variante BPC1494 de TNF-alfa es 1.48. No hay diferencia significativa en los resultados después de 14 semanas de almacenamiento a 5ºC, 25ºC y 40ºC.

pH

El pH se mide para todas las muestras almacenadas bajo condiciones de almacenamiento diferentes para determinar si es que han

ocurrido o no cualesquiera derivas significativas en el pH. Todos los resultados permanecen dentro de la variabilidad de la prueba después de 14 semanas de almacenamiento a 5ºC, 25ºC y 40ºC.

Cromatografía por exclusión de tamaño (SEC)

Este método separa las moléculas de proteínas solubles en la solución basándose en el tamaño y no en el peso molecular. En teoría, las moléculas pequeñas penetran cada poro pequeño de la fase estacionaria y por lo tanto eluirán más tarde. El cromatograma obtenido permite la determinación del porcentaje de área de los agregados, monómero y fragmentos de bajo peso molecular (MW). La presencia de agregados y/o especies de bajo peso molecular es indicativa de degradación de la proteína. La estabilidad incrementada corresponde a un porcentaje alto de especies monoméricas (Mono) junto con un porcentaje bajo de Agregados Totales (TA) y Fragmentos de Peso Molecular Bajo Totales (TLMWF).

Los datos de SEC-HPLC (Tabla 12) muestran que la variante BPC1494 de TNF-alfa es relativamente más estable en la formulación “B” en comparación con la formulación A después de almacenamiento a 25ºC y 40ºC durante 14 semanas. Asimismo, la variante BPC1494 de TNF-alfa es relativamente más estable, o por lo menos tan estable como adalimumab en la formulación A. Los resultados para adalimumab en la formulación B están todos dentro de 5% de TA y/o TLMWF. Por lo tanto, la formulación B tiene ventajas sobre la formulación A tanto para la variante BPC1494 de TNF-alfa como para adalimumab.

Por ejemplo, la Tabla 12 muestra que después de almacenamiento a 25ºC durante 8 semanas, la variante BPC1494 de TNF-alfa en la formulación A tiene 2.3% de TLMWF mientras que la formulación B produce solamente 1.5%. Asimismo, la variante BPC1494 de TNF-alfa en la formulación B es relativamente más estable que el adalimumab en la formulación A (1.8% de TLMWF). De manera similar, en el punto de tiempo de 14 semanas a 25ºC, se observa 3.15% de TLMWF para la variante BPC1494 de TNF-alfa en la formulación “A” en comparación con 2.3% de TLMWF en la formulación “B”. Asimismo, la variante BPC1494 de TNF-alfa en “B” es relativamente más estable que adalimumab en la formulación A (3.4% de TLMWF). Se observa una tendencia similar para TLMWF para ambas moléculas al incubarlas a 40ºC durante 4 semanas (adalimumab en “A”: 3.6%; variante BPC1494 de TNF-alfa en “A”: 4.1%; variante BPC1494

de TNF-alfa en “B”: 2.6%).

Además, los resultados para Agregado Total (TA) muestran que a las 14 semanas a 25ºC, la variante BPC1494 de TNF-alfa es relativamente más estable en “B” (0.3%) que en “A” (0.5%); y relativamente más estable que adalimumab en la formulación A (0.4%).

Enfocamiento isoeléctrico capilar (c-IEF)

Esta técnica se utiliza para determinar el perfil de carga de las moléculas. Un intervalo amplio de pI refleja mayor heterogeneidad de carga del Producto y además un intervalo amplio de pI puede ser indicativo de degradación. Típicamente el número de picos se incrementa con la degradación incrementada. Los datos de C-IEF de la Tabla 12 soportan los hallazgos de SEC en la Tabla 13.

El % de área de la isoforma principal (%AMI) es comparable entre adalimumab en la formulación A y la variante BPC1494 de TNF-alfa en la formulación B en las semanas 8 y 14 a 25ºC (56.0-57.7 y 53.2 respectivamente). En estos puntos de tiempo y temperatura, la formulación B muestra una ligera ventaja sobre “A” para la variante BPC1494 de TNF-alfa.

De manera similar, adalimumab es relativamente más estable en la formulación “B” que en la formulación “A” (véanse los datos de la semana 4). Por ejemplo, se observan cambios incrementados en la heterogeneidad de carga (es decir incremento en el número de picos) para adalimumab incubado hasta por 4 semanas a 40ºC en la formulación “A” en comparación con la formulación “B” (8 picos y 6 picos respectivamente). La variante BPC1494 de TNF-alfa muestra una heterogeneidad de carga más consistente de 5 picos en todos los puntos de tiempo y temperaturas.

Prueba de unión funcional

La actividad de unión de adalimumab y la variante BPC1494 de TNF-alfa en las dos formulaciones se evalúa mediante Biacore. A lo largo de un periodo de 14 semanas de almacenamiento a 5ºC, 25ºC y 40ºC, las muestras presentan % de unión similar dentro de la variabilidad de la prueba.

Por lo tanto, se puede concluir que la formulación “B” puede servir como una alternativa para la formulación “A” en un escenario clínico sin comprometer la estabilidad de la proteína y potencialmente eliminando

el dolor asociado con la formulación de adalimumab comercializada (A).

Como un aspecto importante, estos datos muestran que la formulación de acetato (B) no sólo mejora la estabilidad de la variante BPC1494 de TNF-alfa en comparación con la formulación de citrato-fosfato (A); sino que también la formulación de acetato es comparable o ligeramente mejor que la formulación de citrato-fosfato cuando se estabiliza al adalimumab.

TABLA 12

SEC-HPLC de adalimumab y la variante BPC1494 de TNF-alfa en la Formulación "A" y "B" a 5°C, 25°C y 40°C. TLMWF: Fragmento de Peso Molecular Bajo Total; Mono: Monómero; TA: Agregado Total. N = 2

Condición °C	Inicial			Semana 2			Semana 4			Semana 8			Semana 14		
	TA	Mono	TLMWF	TA	Mono	TLMWF	TA	Mono	TLMWF	TA	Mono	TLMWF	TA	Mono	TLMWF
adalimumab en la formulación 'A'															
5°C	0.30	99.57	0.13	NT			0.27	99.58	0.15	0.32	99.48	0.19	0.49	99.28	0.23
25°C				0.23	99.55	0.22	0.20	99.57	0.23	0.30	97.87	**1.83**	**0.43**	96.16	**3.41**
40°C				0.24	96.86	2.91	0.29	96.06	**3.65**	NT			NT		
adalimumab en la formulación 'B'															
5°C	0.34	99.47	0.18	NT			0.23	99.46	0.31	0.23	99.53	0.24	NT		
25°C				NT			NT			NT			NT		
40°C				0.22	97.60	2.18	0.24	95.7	4.06	0.34	94.92	4.74	NT		
Variante BPC1494 de TNF-alfa en la formulación 'A'															
5°C	0.28	99.72	0.00	NT			0.27	99.73	0.00	0.31	99.59	0.10	0.44	99.41	0.15
25°C				0.28	99.59	0.13	0.28	98.50	1.22	0.39	97.32	**2.30**	**0.47**	96.38	**3.15**
40°C				0.34	96.71	2.96	0.85	95.09	**4.07**	NT			NT		
Variante BPC1494 de TNF-alfa en la formulación 'B'															
5°C	0.29	99.71	0.00	NT			0.27	99.73	0.00	0.28	99.53	0.19	0.29	99.59	0.12
25°C				0.27	99.58	0.15	0.26	99.62	0.12	0.30	98.16	**1.54**	**0.30**	97.39	**2.31**
40°C				0.28	99.40	0.31	0.25	97.17	**2.58**	NT			NT		

NT = No analizado

TABLA 13

CE-IEF de adalimumab y la variante BPC1494 de TNF-alfa en la Formulación "A" y "B" a 5ºC, 25ºC y 40ºC. N = 2

Condición °C	Inicial				Semana 2				Semana 4				Semana 8				Semana 14			
	pIR	pMI	% de AMI	No P	pIR	pMI	% de AMI	No P	pIR	pMI	% de AMI	No P	pIR	pMI	% de AMI	No P	pIR	pMI	% de AMI	No P
adalimumab en la formulación 'A'																				
5°C	8.52 - 8.98	8.72	62.8	6	**NT**				8.52 - 8.96	8.72	62.2	6	8.53 – 9.00	8.74	62.2	6	8.48 – 8.95	8.71	60.0	5
25°C					8.58 - 9.05	8.81	52.4	6	8.50 - 8.96	8.72	60.3	6	8.51 – 9.00	8.74	**57.7**	6	8.51 - 8.98	8.73	**53.2**	5
40°C					8.53 - 9.06	8.79	41.4	8	8.49 - 9.05	8.71	**43.3**	**8**	**NT**				**NT**			
adalimumab en la formulación 'B'																				
5°C	8.57 - 9.07	8.79	60.5	6	NT				8.55 - 9.02	8.76	59.9	6	8.49 – 8.96	8.72	61.0	5	NT			
25C					NT				NT				NT				NT			
40°C					8.53 - 9.02	8.75	53.2	6	8.53 - 9.02	8.75	**47.9**	**6**	8.49 – 9.07	8.72	39.8	6	**NT**			

TABLA 13 (cont.)

Condición °C	Inicial				Semana 2				Semana 4				Semana 8				Semana 14			
	pI R	pMI	% de AMI	No P	pI R	pMI	% de AMI	No P	pI R	pMI	% de AMI	No P	pI R	pMI	% de AMI	No P	pI R	pMI	% de AMI	No P
Variante BPC1494 de TNF-alfa en la formulación 'A'																				
5°C	8.18 - 8.64	8.50	57.6	5	**NT**				8.19 - 8.64	8.50	60.2	5	8.21 – 8.67	8.51	59.1	5	8.17 – 8.62	8.49	58.8	5
25°C					8.20 - 8.69	8.53	57.7	5	8.19 - 8.62	8.50	57.9	5	8.20 – 8.66	8.51	54.5	5	8.17 – 8.61	8.49	52.1	5
40°C					8.21 - 8.70	8.54	50.0	5	8.00 - 8.60	8.50	**37.0**	**5**	**NT**				**NT**			
Variante BPC1494 de TNF-alfa en la formulación 'B'																				
5°C	8.19 - 8.65	8.50	58.3	5	NT				8.20 - 8.65	8.51	59.3	5	8.21 – 8.67	8.52	59.4	5	8.18 – 8.65	8.50	58.5	5
25C					8.22 - 8.70	8.54	57.8	5	8.20 - 8.65	8.51	57.1	5	8.21 – 8.67	8.52	**56.0**	5	8.18 – 8.64	8.50	**53.2**	5
40°C					8.22 - 8.70	8.54	50.7	5	8.01 - 8.62	8.51	**38.0**	**5**	**NT**				**NT**			

NT= No analizado; pI R: Intervalo de Pi; pMI: pI de la isoforma principal; % de AMI:% de área de la isoforma principal; NoP: Número de picos.

EJEMPLO 26

Estudios de formulación a 50 mg/ml

Como se muestra en el Ejemplo 25 previo, el adalimumab y la variante BPC1494 de TNF-alfa a 5mg/ml en la formulación “B” pueden servir como una alternativa para la formulación “A”. Este ejemplo está enfocado en comparar la estabilidad de adalimumab en su formulación “A” comercializada en comparación con la formulación “B” y otras variantes de TNF-alfa a 50 mg/ml.

Se analizan dos muestras de la variante BPC1494 de TNF-alfa, una expresada en células CHO DG44 y la otra expresada en células CHOK1. Se elabora una segunda variante BPC1496 de TNF-alfa en una línea de células CHO-DG44. Todas las tres muestras se expresan y purifican utilizando mAb Select Sure. En contraste con el Ejemplo 25, no se efectúa el paso en columna Superdex. Adalimumab (Código de producto N 00515-01, Número de lote 02136XH12) fabricado por Abbott Laboratories, como en el Ejemplo 25.

El adalimumab se formula en las formulaciones “A” (tal como se compró) y “B” (mediante intercambio con solución amortiguadora) como se describió anteriormente en el Ejemplo 25, y las variantes de TNF-alfa (BPC1494 y 1496) se formulan en “B”, todas aproximadamente a 50 mg/ml (total de 5 muestras). Las muestras se filtran con filtro MillexGV de 0.22 um bajo condiciones de flujo laminar limpio antes de ser transferidas a viales de vidrio pre-esterilizados etiquetados e incubadas a 5ºC y 40ºC hasta por 9 semanas. En los puntos de tiempo seleccionados, las muestras se toman y se analizan utilizando SEC-HPLC (Tabla 14), cIEF (Tabla 15). También se pueden efectuar otras pruebas como se describe más adelante.

Apariencia mediante observación visual

Las muestras se observan respecto a claridad bajo condiciones de luz diurna. Ambos anticuerpos en ambas formulaciones permanecen sin

cambio (solución incolora transparente) después de 9 semanas de almacenamiento a 5ºC y 40ºC.

Medición de la concentración de proteína (A280nm)

La concentración de proteína se mide utilizando un espectrómetro de nanogota, lo cual es indicativo de la estabilidad de la proteína. No hay diferencia significativa en los resultados después de 9 semanas de almacenamiento a 5ºC y 40ºC.

Cromatografía por exclusión de tamaño (SEC)

Los datos de SEC-HPLC (Tabla 13) muestran que el adalimumab a 50 mg/ml es relativamente más estable en la formulación “B” en comparación con la formulación “A” después de almacenamiento a 40ºC durante 9 semanas. Además, las variantes de TNF-alfa (BPC1494 y 1496) fueron relativamente tan estables o más estables en “B” como el adalimumab en “B”. No se llevó a cabo comparación entre las variantes en “A” y “B”.

Nótese que los niveles de TA Iniciales para las variantes de TNF-alfa son relativamente más altos que para el adalimumab. Por lo tanto, los resultados incluyen una columna de % de cambio en el lado derecho para comparar los cambios desde Inicial hasta Semana 9 a 40ºC. Por ejemplo, la Tabla 13 muestra que después de 9 semanas de almacenamiento, el porcentaje de cambio en el fragmento de peso molecular bajo total (TLMWF) en la formulación “B” está entre 3.82-4.96% en comparación con 6.08% en la formulación “A”. De manera similar, el porcentaje de cambio en monómero en la formulación “A” es mayor para adalimumab que para “B” (7.54 y 4.52% respectivamente). Las variantes de TNF-alfa en “B” son todas relativamente por lo menos tan estables o más estables que el adalimumab en la formulación “A” (% de cambio en la semana 9). Los resultados en la semana 4 para todas las muestras están dentro de la tolerancia de 5% de TA y/o TLMWF para un producto comercial. Por lo tanto, “B” tiene ventajas sobre “A” tanto para las variantes de TNF-alfa como para el adalimumab a 50 mg/ml.

En particular, la variante BCP1496 de TNF-alfa muestra a un valor bajo de TLMWF de 3.86 en la semana 9 a 40ºC.

Enfocamiento isoeléctrico capilar (c-IEF)

Los datos de C-IEF (Tabla 15) soportan los hallazgos en la

Tabla 14.

La Formulación B muestra un % de cambio reducido de % de AMI en la semana 9 para adalimumab en comparación con la Formulación A (23.53 y 27.57 respectivamente).

Las variantes de TNF-alfa en “B” son más estables en términos de heterogeneidad de carga (es decir incremento en el número de picos) que adalimumab (tanto en “A” como en “B”). Por ejemplo, en la semana 9 hay 5 y 6 hijos para cada una de las variantes; y 6 y 9 picos para adalimumab, a 5ºC y 40ºC respectivamente.

En particular, la variante BCP1496 de TNF-alfa y adalimumab, ambos en “B”, muestran un % de cambio bajo en % en AMI en la semana 9 de 25.83 y 23.53 respectivamente. El % de cambio relativamente más alto en % de AMI en la semana 9 para la variante BCP1496 de TNF-alfa (CHO DG44) de 38.13 se puede deber al % de AMI inicial relativamente alto de 75.03.

Pruebas de unión funcional (ELISA)

La actividad biológica de adalimumab y de las variantes de TNF-alfa en las dos formulaciones se evalúa mediante Biacore. A lo largo del periodo de 9 semanas de almacenamiento a 5ºC y 40ºC, las muestras presentan el mismo % de unión dentro de la variabilidad de la prueba.

Por lo tanto, se puede concluir que la formulación “B” puede servir como una alternativa para la formulación “A” en un escenario clínico sin comprometer la estabilidad del anticuerpo a una concentración de dosis de 50 mg/ml.

TABLA 14

SEC-HPLC de adalimumab y las variantes BPC1494 y 1496 de TNF-alfa en las Formulaciones "A" y "B" a 5ºC, 25ºC y40ºC. TLMWF – Fragmento de Peso Molecular Bajo Total; Mono – Monómero; TA – Agregado Total. N = 2

Condición °C	Inicial			Semana 1			Semana 2			Semana 4			Semana 9			% de cambio en la semana 9		
	TA	Mono	TLM WF	TA	Mono	TLM WF	TA	Mono	TLM WF	TA	Mono	TLM WF	TA	Mono	TLM WF	TA	Mono	TLM WF
adalimumab en la formulación 'A'																		
5°C	0.30	99.62	0.08	0.30	99.54	0.16	0.32	99.53	0.15	0.29	99.51	0.21	0.34	99.49	0.17	1.45	7.54	6.08
40°C				0.39	99.13	0.48	0.51	99.03	0.46	0.54	98.77	0.69	1.75	92.08	6.16			
adalimumab en la formulación 'B'																		
5°C	0.42	99.45	0.13	0.34	99.49	0.17	0.38	99.45	0.16	0.35	99.42	0.23	0.38	99.44	0.18	0.46	4.52	4.06
40°C				0.41	99.36	0.23	0.48	99.23	0.29	0.54	98.85	0.61	0.88	94.93	4.19			
Variante BPC1494 de TNF-alfa (CHO DG44) en la formulación 'B'																		
5°C	2.76	97.13	0.11	2.65	97.25	0.09	3.29	96.45	0.25	2.66	97.18	0.16	2.83	97.05	0.12	1.32	6.28	4.96
40°C				2.96	96.74	0.29	2.98	96.70	0.32	2.96	96.36	0.68	4.08	90.85	5.07			
Variante BPC1494 de TNF-alfa (CHOK1) en la formulación 'B'																		
5°C	2.35	97.64	0.00	2.32	97.69	0.00	2.36	97.64	0.00	2.33	97.67	0.00	2.56	97.40	0.04	2.56	7.42	4.88
40°C				2.67	97.09	0.24	2.79	96.99	0.22	3.17	96.20	0.63	4.91	90.22	4.88			
Variante BPC1496 de TNF-alfa en la formulación 'B'																		
5°C	1.19	98.78	0.04	1.47	98.49	0.04	1.62	98.34	0.03	1.71	98.15	0.14	1.92	97.95	0.13	1.45	5.28	3.82
40°C				1.75	97.99	0.26	1.46	98.27	0.27	1.40	98.05	0.54	2.64	93.50	3.86			

TABLA 15

CE-IEF de adalimumab y las variantes BPC1494 y 1496 de TNF-alfa en las Formulaciones "A" y "B" a 5°C, 25°C y 40°C. N = 2

Condición °C	Inicial				Semana 1				Semana 2				Semana 4				Semana 9				% de cambio semana 9
	pIR	pMI	% AMI	No P	pIR	pMI	% AMI	No P	pIR	pMI	% AMI	No P	pIR	pMI	% AMI	No P	pIR	pMI	% AMI	No P	% AMI
adalimumab en la formulación 'A'																					
5°C	8.55 - 9.01	8.76	58.67	6	8.56 - 9.00	8.74	58.28	6	8.57 - 9.01	8.75	57.42	6	8.54 - 9.01	8.75	59.46	6	8.55 – 9.02	8.77	60.37	6	27.57
40°C					8.53 - 9.01	8.75	56.18	6	8.52 - 9.00	8.75	51.82	6	8.53 - 9.02	8.75	47.24	6	8.36 - 9.02	8.77	31.10	9	
adalimumab en la formulación 'B'																					
5°C	8.53 - 9.02	8.76	57.91	6	8.53 - 9.01	8.76	59.51	6	8.52 - 9.01	8.76	56.85	6	8.53 - 9.01	8.75	59.00	6	8.54 - 9.02	8.77	59.62	6	23.53
40°C					8.53 - 9.02	8.76	55.52	6	8.52 - 9.00	8.75	51.7	6	8.53 - 9.01	8.75	47.07	6	8.36 - 9.02	8.77	34.38	9	
Variante BPC1494 de TNF-alfa (CHO DG44) en la formulación 'B'																					
5°C	8.22 - 8.68	8.53	75.03	5	8.29 - 8.68	8.52	76.13	5	8.28 - 8.68	8.52	75.11	5	8.28 - 8.68	8.52	73.76	5	8.24 - 8.69	8.53	75.17	5	38.13
40°C					8.22 - 8.66	8.51	70.92	5	8.20 - 8.67	8.51	64.52	5	8.23 - 8.68	8.53	58.40	5	8.06 - 8.69	8.54	36.9	6	

TABLA 15 (cont.)

Condición °C	Inicial				Semana 1				Semana 2				Semana 4				Semana 9				% de cambio semana 9
	pI R	pMI	% AMI	No P	pI R	pMI	% AMI	No P	pI R	pMI	% AMI	No P	pI R	pMI	% AMI	No P	pI R	pMI	% AMI	No P	% AMI
Variante BPC1494 de TNF-alfa (CHOK1) en la formulación 'B'																					
5°C	8.23 - 8.68	8.53	63.75	5	8.22 - 8.68	8.53	63.69	5	8.22 - 8.67	8.52	63.37	5	8.22 - 8.68	8.52	62.32	5	8.24 - 8.70	8.53	63.88	5	33.09
40°C					8.21 - 8.66	8.51	60.57	5	8.21 - 8.65	8.51	56.21	5	8.22 - 8.67	8.52	50.64	5	8.06 - 8.68	8.54	30.66	6	
Variante BPC1496 de TNF-alfa en la formulación 'B'																					
5°C	8.53 - 8.89	8.75	66.48	5	8.52 - 8.88	8.74	64.01	5	8.51 - 8.88	8.74	67.57	5	8.52 - 8.88	8.75	67.06	5	8.53 - 8.89	8.76	68.75	5	25.83
40°C					8.51 - 8.87	8.73	60.52	5	8.51 - 8.87	8.74	57.82	5	8.51 - 8.87	8.74	51.37	5	8.36 - 8.88	8.76	39.65	6	

NT = No analizado; pI R: Intervalo de Pi; pMI: pI de la isoforma principal; % de AMI:% de área de la isoforma principal; NoP: Número de picos.

EJEMPLO 27

Concentraciones de plasma de BPC1494 después de la administración por vía subcutánea en monos cynomolgus macho

En un estudio farmacocinético de dosis repetida BPC1494 se administra por vía subcutánea semanalmente o bisemanalmente durante 4 semanas a 30 o 100 mg/kg a monos cynomolgus macho. Para el grupo 2 (n = 3), a los animales se les administran 2 x 30 mg/kg dosis en el día 1 (aproximadamente 1 hora aparte) seguido por una dosis individua de 30 mg/kg en los días 8, 15 y 22. Para el grupo 3 (n=3), a los animales se les administran 2 x 30 mg/kg dosis en el día 1 (aproximadamente 1 hora aparte) seguido por una dosis individual de 30 mg/kg en el día 15. Para el grupo 4 (n=3), a los animales se les administran 2 x 100 mg/kg dosis en el día 1 (aproximadamente 1 hora aparte) seguido por una dosis individual de 100 mg/kg en el día 15. Las muestras de plasma se toman a intervalos a través de todas las fases de dosificación y recuperación del estudio.

Las muestras de plasma se analizan respecto a BPC1494 utilizando un método analítico calificado basado en una dilución de la muestra seguido por análisis mediante prueba inmunológica. Las muestras de plasma se analizan respecto a BPC1494 o BPC1492. El método utiliza 10 µg/ml de TNF-alfa humano recombinante conjugado con biotina como el antígeno de captura y una dilución 1:100 de anticuerpo anti-IgG de humano (específico de Fc) marcado con AlexaFluor 647 como el anticuerpo de detección (G18-145). El límite inferior de cuantificación (LLQ) para BPC1494 es 1 µg/ml utilizando una alícuota de 50 µl de plasma de mono diluido 100 veces con un límite superior de cuantificación (HLQ) de 100 µg/ml. Los sistemas de computadora que se utilizan en este estudio para adquirir y cuantificar los datos incluyen Gyrolab Workstation Versión 5.2.0, Gyrolab Companion versión 1.0 y SMS2000 versión 2.3. El análisis farmacocinético se efectúa mediante análisis farmacocinético no compartimental utilizando WinNonlin Enterprise Pheonix versión 6.1.

Los datos farmacocinético se presentan en la Tabla 16 con los parámetros determinados a partir de la última dosis recibida en la semana 4 al punto de tiempo (t) 840 horas después de la dosificación para el grupo (2) de dosis de 30 mg/kg/semana y la última dosis recibida en la semana 3 al punto de tiempo (t) 1008 horas posterior a la dosificación para los grupos de dosis de 30 y 100 mg/kg/bisemanalmente (3 y 4).

TABLA 16

Parámetros farmacocinéticos individuales y promedio para BPC1494 en mono Cynomolgus macho después de la dosificación de BPC1494 a 30 mg/kg/semana o 30 y 100 mg/kg/bisemanalmente a través de un estudio investigativo de 4 semanas

Dosis (mg/kg/ bisemanal)	Número de Animal	Parámetros Farmacocinéticos b						
		ABC0-t (mg.h/mL)	Cmax (mg/mL)	Tmax media (h)	t½ (h)	MRT (h)	c CL_F estimado (mL/h/kg)	c Vz_F estimado (mL/h/kg)
30a	P12M-272	923	1.51	168	616	367	0.125	111
	P12M-273	758	1.29	168	604	368	0.141	123

TABLA 16 (cont.)

Dosis (mg/kg/ bisemanal)	Número de Animal	Parámetros Farmacocinéticos b						
		ABC0-t (mg.h/mL)	Cmax (mg/mL)	Tmax media (h)	t½ (h)	MRT (h)	c CL_F estimado (mL/h/kg)	c Vz_F estimado (mL/h/kg)
30a	P12M-274d	21.3	0.135	24	226	142	3.01	978
	Media	841 (568)	1.40 (0.977)	168	610 (482)	367 (292)	0.133 (1.09)	117 (404)
30	P12M-275	743	1.08	24	420	419	0.115	69.5
	P12M-276	538	2.31	48	197	307	0.141	40.2
	P12M-277d	239	1.09	24	123	189	0.217	38.6
	Media	641 (507)	1.70 (1.49)	36 (24)	309 (247)	363 (305)	0.128 (0.158)	54.9 (49.4)
100	P12M-278	2760	5.89	24	398	374	0.0998	57.3
	P12M-279	2480	5.21	72	332	362	0.131	62.9
	P12M-280	2080	4.10	72	331	364	0.123	58.8
	Media	2440	5.07	72	354	367	0.118	59.7

a) Los animales del grupo 2 reciben 30 mg/kg semanalmente durante 4 semanas

b) Parámetros farmacocinéticos determinados a partir de la última dosis recibida en la semana 4 hasta el punto de tiempo (t) 840 horas posterior a la dosificación para 30 mg/kg/semana y la última dosis recibida en la semana 3 hasta el punto de tiempo (t) 1008 posterior a la dosificación para 30 y 100 mg/kg/bisemanalmente

c) Cl_F y Vz_F son estimados debido a la fase de eliminación después de dosis múltiples y estado constante no alcanzado todavía. Los estimados de parámetro se han calculado a partir de i) utilizar ABC0-168 o 336, ii) la extrapolación de datos provenientes de la semana 1 tomando

como base el tiempo de vida media y iii) utilizar la dosis total sobre el muestreo definido con ABC0-inf

d) Los animales 274 y 277 se excluyeron de los cálculos farmacocinéticos de la media tomando como base el juicio científico de que es probable que estos animales estén exhibiendo una respuesta de anticuerpo anti-fármaco. Los datos de la media mostrados en paréntesis son incluyentes de estos animales.

EJEMPLO 28

Análisis de unión con SPR de FcRn a anticuerpos monoclonales anti-TNFα capturados con Proteína L

El estudio se efectúa utilizando la máquina biosensora ProteOnTM XPR36 (BioRadTM), una máquina basada en plasmón de superficie diseñada para mediciones de cinética/afinidad libres de marca. La Proteína L se inmoviliza en un chip GLM (BioRad, No. de Cat: 176-5012) mediante copulación de amina primaria. Esta superficie se utiliza después para capturar los anticuerpos humanizados, después se utiliza FcRn de humano y de cynomolgus (ambos materiales propios) como analitos a 2048 nM, 512 nM, 128 nM, 32 nM, y 8 nM, una inyección de solución amortiguadora sola (es decir 0 nM) utilizada para doble referencia de las curvas de unión. La regeneración de la superficie de la proteína L se efectúa utilizando Glicina-HCl pH 1.5. La prueba se corre a 25ºC y se corre en HBS-EP pH 7.4 y HBS-EP pH 6.0 con FcRn de humano o de cynomolgus diluido en la solución reguladora apropiada. Las afinidades se calculan utilizando el modelo de equilibrio, inherente al software de análisis ProteOn, utilizando una “R-max global” para unión a pH 6.0 y la R-max proveniente de la unión a pH 6.0 para el cálculo de la afinidad a pH 7.4. Debido a que las curvas de unión no alcanzan la saturación a pH 7.4, los valores obtenidos probablemente no sean afinidades verdaderas sin embargo se utilizan para clasificar la unión de los anticuerpos analizados.

La afinidad de unión de diferentes lotes de BPC1492, BPC1494 y BPC1496 para FcRn de humano se compara utilizando capturas de anticuerpos por la Proteína L. La Tabla 17 mostrado resultados de una serie de experimentos utilizando este formato. Los datos confirman que los BPC1494 y BPC1496 tienen una afinidad mejorada para FcRn recombinante de humano en comparación con BPC1492 tanto a pH 6.0

como a pH7.4. La mejora en número de veces en la afinidad de unión de BPC1494 para FcRn en comparación con BPC1492 difiere de experimento a experimento debido a cambios en la actividad de la Proteína L en la captura. Sin embargo, en los experimentos mostrados en la Tabla 17, la mejora en número de veces en la afinidad de unión a pH 6.0 varía entre 3.5 veces y 16.3 veces. No es posible determinar la mejora en número de veces en la afinidad de unión a pH 7.4 debido a la actividad de unión débil de IgG de humano para FcRn a pH neutro.

También se compara la afinidad de unión de los diferentes lotes de BPC1492, BPC1494 y BPC1496 para FcRn de cynomolgus utilizando anticuerpos capturados con Proteína L. La Tabla 18 muestra los resultados del experimento utilizando este formato. Los datos confirman que BPC1494 tiene una afinidad mejorada para FcRn recombinante de cynomolgus en comparación con BPC1492 tanto a pH 6.0 como a pH7.4. La mejora en número de veces en la afinidad de unión de BPC1494 (intervalo 41.8-46.8 nM) para FcRn de cynomolgus en comparación con BPC1492 (intervalo 394-398 nM) es de aproximadamente 9 veces a pH 6. No es posible determinar la mejora en número de veces en la afinidad de unión a pH 7.4 debido a la actividad de unión débil de BPC1492 para FcRn.

TABLA 17

Afinidades de unión a FcRn recombinante de humano utilizando el método de captura con Proteína L

		KD de afinidad (nM)								
		BPC1492			BPC1494			BPC1496		
		Lote			Lote			Lote		
Expt.	pH	HEK 1406	HEK 1348	CHO grado clínico	HEK 1407	HEK 1350	GRITS 42954	HEK 1352	HEK 1408	GRITS 42955
5	6	320.0	325.0	315.0	6.08**	24.9	26.2	14.3	16.9	15.4
	7.4	NAB	NAB	NAB	2020**	12600	11700	8980	9830	9670
4	6	50.9	54.8	55.5	1.33	4.05	4.50	2.35	3.60	2.33
	7.4	NAB	NAB	NAB	303	5270	4740	6820	7550	7550
3	6	16.0	16.8	17.3	0.701	1.960	2.430	2.200	4.140	1.810
	7.4	NAB	NAB	NAB	1760	10500	10900	7830	8050	8460
2	6	13.1	12.9	13.9	##	0.359	0.979	0.978	2.440	0.546
	7.4	NAB	NAB	NAB	2010	9190	9330	10900	9480	9550
1	6	ND	234	ND	ND	66	ND	ND	85	ND
	7.4	ND	NAB	ND	ND	NAB	ND	ND	2010	ND

** - aunque se han reportado los puntos de datos, los valores deben ser tratados con precaución debido a que estos datos no son consistentes con los datos obtenidos para los otros lotes de la misma molécula durante este experimento

NAB = sin unión analizable

ND = no ha analizado en este experimento

= unión de alta afinidad – más allá de la sensibilidad de la máquina

TABLA 18

Afinidades de unión a FcRn recombinante de Cynomolgus utilizando el método de captura con Proteína L

Número de lote	Construcción	pH6 KD (nM)	pH7.4 KD (nM)
GRITS44463	BPC1494	46.8	14800
MCB16Marc2012	BPC1494	41.8	13300
GRITS42954	BPC1494	43.2	13700
Grado clínico	BPC1492	394	sin unión
GRITS44348	BPC1492	398	sin unión

TABLA A

Descripción	Identificador de secuencia (SEQ ID NO)	
	Polinucleótido	Aminoácido
Cadena ligera de anticuerpo anti-TNF	1	2
Dominio variable (VL) de anticuerpo anti-TNF	-	3
Cadena pesada de anticuerpo anti-TNF más la modificación M252Y/S254T/T256E	4	5
Dominio variable pesado (VH) de anticuerpo anti-TNF	-	6
Dominio constante de IgG1 más la modificación M252Y/S254T/T256E	-	7
Cadena pesada de anticuerpo anti-TNF más la modificación M428L/N434S	8	9
Dominio constante de IgG1 más la modificación M428L/N434S	-	10
Cadena pesada de anticuerpo anti-TNF (IgG1 de tipo silvestre)	11	12
Dominio constante de IgG1 (tipo silvestre)	-	13
Cadena pesada de anticuerpo anti-TNF más la modificación T250Q/M428L	14	15
Dominio de constante de IgG1 más la modificación T250Q/M428L	-	16
Cadena pesada de anticuerpo anti-TNF más la modificación V308F	17	18
Dominio constante de IgG1 más la modificación V308F	-	19
Cadena pesada de anticuerpo anti-TNF más la modificación V259I	20	21

TABLA A (cont.)

Descripción	Identificador de secuencia (SEQ ID NO)	
	Polinucleótido	Aminoácido
Dominio constante de IgG1 más la modificación V259I	-	22
Cadena pesada de anticuerpo anti-TNF más la variante P257L y N434Y	23	24
Dominio constante de IgG1 más la modificación P257L y N434Y	-	25
Secuencia de péptido de señal	-	26
CDRH1 de anticuerpo anti-TNF	-	27
CDRH2 de anticuerpo anti-TNF	-	28
CDRH3 de anticuerpo anti-TNF	-	29
CDRL1 de anticuerpo anti-TNF	-	30
CDRL2 de anticuerpo anti-TNF	-	31
CDRL3 de anticuerpo anti-TNF	-	32
Variante de CDRH1 de anticuerpo anti-TNF	-	33-38
Cimzia (certolizumab) LC (VL + Ck		39
Variante de CDRH3 de anticuerpo anti-TNF	-	40-49
Variante de CDRL1 de anticuerpo anti-TNF	-	50-61
Variante de CDRL2 de anticuerpo anti-TNF	-	62-72
Variante de CDRL3 de anticuerpo anti-TNF	-	73-76
cb1-3-VH	77	78
cb2-44-VH	79	80
cb1-39-VH	81	82

TABLA A (cont.)

Descripción	Identificador de secuencia (SEQ ID NO)	
	Polinucleótido	Aminoácido
cb1-31-VH	83	84
cb2-11-VH	85	86
cb2-40-VH	87	88
cb2-35-VH	89	90
cb2-28-VH	91	92
cb2-38-VH	93	94
cb2-20-VH	95	96
cb1-8-VL	97	98
cb1-43-VL	99	100
cb1-45-VL	101	102
cb1-4-VL	103	104
cb1-41-VL	105	106
cb1-37-VL	107	108
cb1-39-VL	109	110
cb1-33-VL	111	112
cb1-35-VL	113	114
cb1-31-VL	115	116
cb1-29-VL	117	118
cb1-22-VL	119	120
cb1-23-VL	121	122
cb1-12-VL	123	124
cb1-10-VL	125	126
cb2-1-VL	127	128

TABLA A (cont.)

Descripción	Identificador de secuencia (SEQ ID NO)	
	Polinucleótido	Aminoácido
cb2-11-VL	129	130
cb2-40-VL	131	132
cb2-35-VL	133	134
cb2-28-VL	135	136
cb2-20-VL	137	138
cb1-3-VL	139	140
cb2-6-VL	141	142
cb2-44-VL	143	144
cb1-VH variante de la cadena pesada de anticuerpo anti-TNF más la modificación M252Y/S254T/T256E	-	145
cb2-44-VH variante de la cadena pesada de anticuerpo anti-TNF más la modificación M252Y/S254T/T256E	-	146
cb1-3-VL variante de la cadena ligera de anticuerpo anti-TNF	147	148
cb2-6-VL variante de la cadena ligera de anticuerpo anti-TNF	149	150
cb2-44-VL variante de la cadena ligera de anticuerpo anti-TNF	151	152
cb1-3-VH variante de la cadena pesada de anticuerpo anti-TNF	153	154
cb2-44-VH variante de la cadena pesada de anticuerpo anti-TNF	155	156
Cadena pesada de Pascolizumab que contiene las modificaciones M252Y/S254T/T256E	157	158

TABLA A (cont.)

Descripción	Identificador de secuencia (SEQ ID NO)	
	Polinucleótido	Aminoácido
Cadena ligera de Pascolizumab	159	160
Cadena pesada de Pascolizumab	-	161
Cadena pesada de anticuerpo anti-TNF alternativa más la modificación M428L/N434S		162
Dominio constante de IgG1 alternativo más la modificación M428L/N434S		163
Cadena pesada de anticuerpo anti-TNF más la modificación H433K/N434F		164
Dominio constante de IgG1 más la modificación H433K/N434F		165
Cadena pesada de anticuerpo anti-TNF alternativa más la modificación H433K/N434F		166
Dominio constante de IgG1 alternativo más la modificación H433K/N434F		167
Cadena pesada de anticuerpo anti-TNF alternativa más la modificación M428L/N434S		168
Dominio constante de IgG1/2 más la modificación M428L/N434S		169
Golimumab_VH		170
Golimumab_VL		171
Golimumab HC		172

TABLA A (cont.)

Descripción	Identificador de secuencia (SEQ ID NO)	
	Polinucleótido	Aminoácido
Golimumab LC		173
Remicade VH		174
Remicade VL		175
Remicade HC		176
Remicade LC		177
Cimzia (certolizumab) VH		178
Cimzia (certolizumab) VL		179
Cimzia (certolizumab) HC (VH+CH1)		180

BREVE DESCRIPCION DE LAS SECUENCIAS

SEQ ID NO: 1 Secuencia de polinucleótido de la cadena ligera de anticuerpo anti-TNF

GATATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCTCTGTGGG
CGATAGAGTGACCATCACCTGCCGGGCCAGCCAGGGCATCAGAAACT
ACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGCCCCTAAGCTGCTG
ATCTACGCCGCCAGCACCCTGCAGAGCGGCGTGCCCAGCAGATTCAG
CGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGC
AGCCCGAGGACGTGGCCACCTACTACTGCCAGCGGTACAACAGAGCC
CCTTACACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAGATCAAGCGTACGGT
GGCCGCCCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCCCAGCGATGAGCAGCTCA
AGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGTCTGCTGAACAACTTCTACCCC
CGGGAGGCCAAAGTGCAGTGGAAAGTGGACAACGCCCTGCAGAGCGG
CAACAGCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCAAGGACTCCACCT
ACAGCCTGAGCAGCACCCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAG
CACAAAGTGTACGCCTGCGAAGTGACCCACCAGGGCCTGTCCAGCCC
CGTGACCAAGAGCTTCAACCGGGGCGAGTGC

SEQ ID NO: 2 Secuencia de proteína de la cadena ligera de anticuerpo

anti-TNF

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAA
STLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQRYNRAPYTFGQG
TKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN
ALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLS
SPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 3 Secuencia de proteína del dominio variable (VL) de anticuerpo anti-TNF

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAA
STLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQRYNRAPYTFGQG
TKVEIKRT

SEQ ID NO: 4 Secuencia de polinucleótido de la cadena pesada de anticuerpo anti-TNF más la modificación M252Y/S254T/T256E

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCCGGCA
GAAGCCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCGACGAC
TACGCCATGCACTGGGTGAGGCAGGCCCCTGGCAAGGGCCTGGAGTG
GGTGTCCGCCATCACCTGGAATAGCGGCCACATCGACTACGCCGACA
GCGTGGAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACGCCAAGAACAGC
CTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTA
CTACTGTGCCAAGGTGTCCTACCTGAGCACCGCCAGCAGCCTGGACTA
CTGGGGCCAGGGCACACTAGTGACCGTGTCCAGCGCCAGCACCAAGG
GCCCCAGCGTGTTCCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACCAGCGGC
GGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAACC
GGTGACCGTGTCCTGGAACAGCGGAGCCCTGACCAGCGGCGTGCACA
CCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACAGCCTGAGCAGC
GTGGTGACCGTGCCCAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTG
TAACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGG
AGCCCAAGAGCTGTGACAAGACCCACACCTGCCCCCCCTGCCCTGCC
CCCGAGCTGCTGGGAGGCCCCAGCGTGTTCCTGTTCCCCCCCAAGCC
TAAGGACACCCTGTACATCACCAGAGAGCCCGAGGTGACCTGTGTGGT
GGTGGATGTGAGCCACGAGGACCCTGAGGTGAAGTTCAACTGGTACG
TGGACGGCGTGGAGGTGCACAATGCCAAGACCAAGCCCAGGGAGGAG
CAGTACAACAGCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCA
CCAGGATTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGTAAGGTGTCCAACAA
GGCCCTGCCTGCCCCTATCGAGAAAACCATCAGCAAGGCCAAGGGCC

AGCCCAGAGAGCCCCAGGTGTACACCCTGCCCCCTAGCAGAGATGAG
CTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGCCTGGTGAAGGGCTTCTAC
CCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCCGAGA
ACAACTACAAGACCACCCCCCCTGTGCTGGACAGCGATGGCAGCTTCT
TCCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGAGCAGATGGCAGCAGGGC
AACGTGTTCAGCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAATCACTAC
ACCCAGAAGAGCCTGAGCCTGTCCCCTGGCAAG

SEQ ID NO: 5 Secuencia de proteína de la cadena pesada de anticuerpo anti-TNF más la modificación M252Y/S254T/T256E

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWV
SAITWNSGHIDYADSVEGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKV
SYLSTASSLDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL
VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGT
QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP
KPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ
YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP
QVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP
VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP
GK

SEQ ID NO: 6 Secuencia de proteína del dominio variable pesado (VH) de anticuerpo anti-TNF

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWV
SAITWNSGHIDYADSVEGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKV
SYLSTASSLDYWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO: 7 Secuencia de proteína del dominio constante de IgG1 más la modificación M252Y/S254T/T256E

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV
HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPK
SCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHE
DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLV
KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ
QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO: 8 Secuencia de polinucleótido de la cadena pesada de anticuerpo anti-TNF más la modificación M428L/N434S

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCCGGCA
GAAGCCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCGACGAC
TACGCCATGCACTGGGTGAGGCAGGCCCCTGGCAAGGGCCTGGAGTG
GGTGTCCGCCATCACCTGGAATAGCGGCCACATCGACTACGCCGACA
GCGTGGAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACGCCAAGAACAGC
CTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTA
CTACTGTGCCAAGGTGTCCTACCTGAGCACCGCCAGCAGCCTGGACTA
CTGGGGCCAGGGCACACTAGTGACCGTGTCCAGCGCCAGCACCAAGG
GCCCCAGCGTGTTCCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACCAGCGGC
GGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAACC
GGTGACCGTGTCCTGGAACAGCGGAGCCCTGACCAGCGGCGTGCACA
CCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACAGCCTGAGCAGC
GTGGTGACCGTGCCCAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTG
TAACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGG
AGCCCAAGAGCTGTGACAAGACCCACACCTGCCCCCCCTGCCCTGCC
CCCGAGCTGCTGGGAGGCCCCAGCGTGTTCCTGTTCCCCCCCAAGCC
TAAGGACACCCTGATGATCAGCAGAACCCCCGAGGTGACCTGTGTGGT
GGTGGATGTGAGCCACGAGGACCCTGAGGTGAAGTTCAACTGGTACG
TGGACGGCGTGGAGGTGCACAATGCCAAGACCAAGCCCAGGGAGGAG
CAGTACAACAGCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCA
CCAGGATTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGTAAGGTGTCCAACAA
GGCCCTGCCTGCCCCTATCGAGAAAACCATCAGCAAGGCCAAGGGCC
AGCCCAGAGAGCCCCAGGTGTACACCCTGCCCCCTAGCAGAGATGAG
CTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGCCTGGTGAAGGGCTTCTAC
CCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCCGAGA
ACAACTACAAGACCACCCCCCCTGTGCTGGACAGCGATGGCAGCTTCT
TCCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGAGCAGATGGCAGCAGGGC
AACGTGTTCAGCTGCTCCGTGCTGCACGAGGCCCTGCACAGCCACTAC
ACCCAGAAGAGCCTGAGCCTGTCCCCTGGCAAG

SEQ ID NO: 9 Secuencia de proteína de la cadena pesada de anticuerpo anti-TNF más la modificación M428L/N434S

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWV
SAITWNSGHIDYADSVEGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKV
SYLSTASSLDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL

VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGT
QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP
KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ
YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP
QVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP
VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPG
K

SEQ ID NO: 10 Secuencia de proteína del dominio constante de IgG1 más la modificación M428L/N434S

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV
HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPK
SCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE
DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLV
KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ
QGNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO: 11 Secuencia de polinucleótido de la cadena pesada de anticuerpo anti-TNF (IgG1 de tipo silvestre)

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCCGGCA
GAAGCCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCGACGAC
TACGCCATGCACTGGGTGAGGCAGGCCCCTGGCAAGGGCCTGGAGTG
GGTGTCCGCCATCACCTGGAATAGCGGCCACATCGACTACGCCGACA
GCGTGGAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACGCCAAGAACAGC
CTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTA
CTACTGTGCCAAGGTGTCCTACCTGAGCACCGCCAGCAGCCTGGACTA
CTGGGGCCAGGGCACACTAGTGACCGTGTCCAGCGCCAGCACCAAGG
GCCCCAGCGTGTTCCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACCAGCGGC
GGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAACC
GGTGACCGTGTCCTGGAACAGCGGAGCCCTGACCAGCGGCGTGCACA
CCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACAGCCTGAGCAGC
GTGGTGACCGTGCCCAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTG
TAACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGG
AGCCCAAGAGCTGTGACAAGACCCACACCTGCCCCCCCTGCCCTGCC
CCCGAGCTGCTGGGAGGCCCCAGCGTGTTCCTGTTCCCCCCCAAGCC
TAAGGACACCCTGATGATCAGCAGAACCCCCGAGGTGACCTGTGTGGT
GGTGGATGTGAGCCACGAGGACCCTGAGGTGAAGTTCAACTGGTACG

TGGACGGCGTGGAGGTGCACAATGCCAAGACCAAGCCCAGGGAGGAG
CAGTACAACAGCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCA
CCAGGATTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGTAAGGTGTCCAACAA
GGCCCTGCCTGCCCCTATCGAGAAAACCATCAGCAAGGCCAAGGGCC
AGCCCAGAGAGCCCCAGGTGTACACCCTGCCCCCTAGCAGAGATGAG
CTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGCCTGGTGAAGGGCTTCTAC
CCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCCGAGA
ACAACTACAAGACCACCCCCCCTGTGCTGGACAGCGATGGCAGCTTCT
TCCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGAGCAGATGGCAGCAGGGC
AACGTGTTCAGCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAATCACTAC
ACCCAGAAGAGCCTGAGCCTGTCCCCTGGCAAG

SEQ ID NO: 12 Secuencia de proteína de la cadena pesada de anticuerpo anti-TNF (IgG1 de tipo silvestre)

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWV
SAITWNSGHIDYADSVEGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKV
SYLSTASSLDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL
VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGT
QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP
KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ
YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP
QVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP
VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP
GK

SEQ ID NO: 13 Secuencia de proteína del dominio constante de IgG1 (tipo silvestre)

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV
HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPK
SCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE
DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLV
KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ
QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO: 14 Secuencia de polinucleótido de la cadena pesada de anticuerpo anti-TNF más la modificación T250Q/M428L

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCCGGCA
GAAGCCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCGACGAC
TACGCCATGCACTGGGTGAGGCAGGCCCCTGGCAAGGGCCTGGAGTG
GGTGTCCGCCATCACCTGGAATAGCGGCCACATCGACTACGCCGACA
GCGTGGAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACGCCAAGAACAGC
CTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTA
CTACTGTGCCAAGGTGTCCTACCTGAGCACCGCCAGCAGCCTGGACTA
CTGGGGCCAGGGCACACTAGTGACCGTGTCCAGCGCCAGCACCAAGG
GCCCCAGCGTGTTCCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACCAGCGGC
GGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAACC
GGTGACCGTGTCCTGGAACAGCGGAGCCCTGACCAGCGGCGTGCACA
CCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACAGCCTGAGCAGC
GTGGTGACCGTGCCCAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTG
TAACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGG
AGCCCAAGAGCTGTGACAAGACCCACACCTGCCCCCCCTGCCCTGCC
CCCGAGCTGCTGGGAGGCCCCAGCGTGTTCCTGTTCCCCCCCAAGCC
TAAGGACcaaCTGATGATCAGCAGAACCCCCGAGGTGACCTGTGTGGT
GGTGGATGTGAGCCACGAGGACCCTGAGGTGAAGTTCAACTGGTACG
TGGACGGCGTGGAGGTGCACAATGCCAAGACCAAGCCCAGGGAGGAG
CAGTACAACAGCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCA
CCAGGATTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGTAAGGTGTCCAACAA
GGCCCTGCCTGCCCCTATCGAGAAAACCATCAGCAAGGCCAAGGGCC
AGCCCAGAGAGCCCCAGGTGTACACCCTGCCCCCTAGCAGAGATGAG
CTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGCCTGGTGAAGGGCTTCTAC
CCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCCGAGA
ACAACTACAAGACCACCCCCCCTGTGCTGGACAGCGATGGCAGCTTCT
TCCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGAGCAGATGGCAGCAGGGC
AACGTGTTCAGCTGCTCCGTGtTGCACGAGGCCCTGCACAATCACTACA
CCCAGAAGAGCCTGAGCCTGTCCCCTGGCAAG

SEQ ID NO: 15 Secuencia de proteína de la cadena pesada de anticuerpo anti-TNF más la modificación T250Q/M428L

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWV
SAITWNSGHIDYADSVEGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKV
SYLSTASSLDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL
VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGT
QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP

KPKDQLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE
QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR
EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT
PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHNHYTQKSLSLS
PGK

SEQ ID NO: 16 Secuencia de proteína del dominio constante de IgG1 más la modificación T250Q/M428L

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV
HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPK
SCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDQLMISRTPEVTCVVVDVSH
EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK
EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCL
VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ
QGNVFSCSVLHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO: 17 Secuencia de polinucleótido de la cadena pesada de anticuerpo anti-TNF más la modificación V308F

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCCGGCA
GAAGCCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCGACGAC
TACGCCATGCACTGGGTGAGGCAGGCCCCTGGCAAGGGCCTGGAGTG
GGTGTCCGCCATCACCTGGAATAGCGGCCACATCGACTACGCCGACA
GCGTGGAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACGCCAAGAACAGC
CTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTA
CTACTGTGCCAAGGTGTCCTACCTGAGCACCGCCAGCAGCCTGGACTA
CTGGGGCCAGGGCACACTAGTGACCGTGTCCAGCGCCAGCACCAAGG
GCCCCAGCGTGTTCCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACCAGCGGC
GGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAACC
GGTGACCGTGTCCTGGAACAGCGGAGCCCTGACCAGCGGCGTGCACA
CCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACAGCCTGAGCAGC
GTGGTGACCGTGCCCAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTG
TAACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGG
AGCCCAAGAGCTGTGACAAGACCCACACCTGCCCCCCCTGCCCTGCC
CCCGAGCTGCTGGGAGGCCCCAGCGTGTTCCTGTTCCCCCCCAAGCC
TAAGGACACCCTGATGATCAGCAGAACCCCCGAGGTGACCTGTGTGGT
GGTGGATGTGAGCCACGAGGACCCTGAGGTGAAGTTCAACTGGTACG
TGGACGGCGTGGAGGTGCACAATGCCAAGACCAAGCCCAGGGAGGAG

CAGTACAACAGCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCtTcCTGCAC
CAGGATTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGTAAGGTGTCCAACAAG
GCCCTGCCTGCCCCTATCGAGAAAACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCA
GCCCAGAGAGCCCCAGGTGTACACCCTGCCCCCTAGCAGAGATGAGC
TGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGCCTGGTGAAGGGCTTCTACC
CCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCCGAGAA
CAACTACAAGACCACCCCCCCTGTGCTGGACAGCGATGGCAGCTTCTT
CCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGAGCAGATGGCAGCAGGGCA
ACGTGTTCAGCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAATCACTACA
CCCAGAAGAGCCTGAGCCTGTCCCCTGGCAAG

SEQ ID NO: 18 Secuencia de proteína de la cadena pesada de anticuerpo anti-TNF más la modificación V308F

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWV
SAITWNSGHIDYADSVEGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKV
SYLSTASSLDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL
VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGT
QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP
KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ
YNSTYRVVSVLTFLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP
QVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP
VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP
GK

SEQ ID NO: 19 Secuencia de proteína del dominio constante de IgG1 más la modificación V308F

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV
HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPK
SCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE
DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTFLHQDWLNGKE
YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLV
KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ
QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO: 20 Secuencia de polinucleótido de la cadena pesada de anticuerpo anti-TNF más la modificación V259I

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCCGGCA

GAAGCCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCGACGAC
TACGCCATGCACTGGGTGAGGCAGGCCCCTGGCAAGGGCCTGGAGTG
GGTGTCCGCCATCACCTGGAATAGCGGCCACATCGACTACGCCGACA
GCGTGGAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACGCCAAGAACAGC
CTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTA
CTACTGTGCCAAGGTGTCCTACCTGAGCACCGCCAGCAGCCTGGACTA
CTGGGGCCAGGGCACACTAGTGACCGTGTCCAGCGCCAGCACCAAGG
GCCCCAGCGTGTTCCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACCAGCGGC
GGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAACC
GGTGACCGTGTCCTGGAACAGCGGAGCCCTGACCAGCGGCGTGCACA
CCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACAGCCTGAGCAGC
GTGGTGACCGTGCCCAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTG
TAACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGG
AGCCCAAGAGCTGTGACAAGACCCACACCTGCCCCCCCTGCCCTGCC
CCCGAGCTGCTGGGAGGCCCCAGCGTGTTCCTGTTCCCCCCCAAGCC
TAAGGACACCCTGATGATCAGCAGAACCCCCGAGATCACCTGTGTGGT
GGTGGATGTGAGCCACGAGGACCCTGAAGTGAAGTTCAACTGGTACGT
GGACGGCGTGGAGGTGCACAATGCCAAGACCAAGCCCAGGGAGGAG
CAGTACAACAGCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCA
CCAGGATTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGTAAGGTGTCCAACAA
GGCCCTGCCTGCCCCTATCGAGAAAACCATCAGCAAGGCCAAGGGCC
AGCCCAGAGAGCCCCAGGTGTACACCCTGCCCCCTAGCAGAGATGAG
CTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGCCTGGTGAAGGGCTTCTAC
CCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCCGAGA
ACAACTACAAGACCACCCCCCCTGTGCTGGACAGCGATGGCAGCTTCT
TCCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGAGCAGATGGCAGCAGGGC
AACGTGTTCAGCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAATCACTAC
ACCCAGAAGAGCCTGAGCCTGTCCCCTGGCAAG

SEQ ID NO: 21 Secuencia de proteína de la cadena pesada de anticuerpo anti-TNF más la modificación V259I

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWV
SAITWNSGHIDYADSVEGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKV
SYLSTASSLDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL
VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGT
QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP
KPKDTLMISRTPEITCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ
YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP

QVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP
VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP
GK

SEQ ID NO: 22 Secuencia de proteína del dominio constante de IgG1 más la modificación V259I

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV
HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPK
SCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEITCVVVDVSHE
DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLV
KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ
QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO: 23 Secuencia de polinucleótido de la cadena pesada de anticuerpo anti-TNF más la variante P257L y N434Y

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCCGGCA
GAAGCCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCGACGAC
TACGCCATGCACTGGGTGAGGCAGGCCCCTGGCAAGGGCCTGGAGTG
GGTGTCCGCCATCACCTGGAATAGCGGCCACATCGACTACGCCGACA
GCGTGGAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACGCCAAGAACAGC
CTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTA
CTACTGTGCCAAGGTGTCCTACCTGAGCACCGCCAGCAGCCTGGACTA
CTGGGGCCAGGGCACACTAGTGACCGTGTCCAGCGCCAGCACCAAGG
GCCCCAGCGTGTTCCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACCAGCGGC
GGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAACC
GGTGACCGTGTCCTGGAACAGCGGAGCCCTGACCAGCGGCGTGCACA
CCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACAGCCTGAGCAGC
GTGGTGACCGTGCCCAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTG
TAACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGG
AGCCCAAGAGCTGTGACAAGACCCACACCTGCCCCCCCTGCCCTGCC
CCCGAGCTGCTGGGAGGCCCCAGCGTGTTCCTGTTCCCCCCCAAGCC
TAAGGACACCCTGATGATCAGCAGAACCCTGGAGGTGACCTGTGTGGT
GGTGGATGTGAGCCACGAGGACCCTGAGGTGAAGTTCAACTGGTACG
TGGACGGCGTGGAGGTGCACAATGCCAAGACCAAGCCCAGGGAGGAG
CAGTACAACAGCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCA
CCAGGATTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGTAAGGTGTCCAACAA

GGCCCTGCCTGCCCCTATCGAGAAAACCATCAGCAAGGCCAAGGGCC
AGCCCAGAGAGCCCCAGGTGTACACCCTGCCCCCTAGCAGAGATGAG
CTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGCCTGGTGAAGGGCTTCTAC
CCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCCGAGA
ACAACTACAAGACCACCCCCCCTGTGCTGGACAGCGATGGCAGCTTCT
TCCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGAGCAGATGGCAGCAGGGC
AACGTGTTCAGCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACTATCACTAC
ACCCAGAAGAGCCTGAGCCTGTCCCCTGGCAAG

SEQ ID NO: 24 Secuencia de proteína de la cadena pesada de anticuerpo anti-TNF más la modificación P257L y N434Y

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWV
SAITWNSGHIDYADSVEGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKV
SYLSTASSLDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL
VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGT
QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP
KPKDTLMISRTLEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ
YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP
QVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP
VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHYHYTQKSLSLSP
GK

SEQ ID NO: 25 Secuencia de proteína del dominio constante de IgG1 más la modificación P257L y N434Y

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV
HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPK
SCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTLEVTCVVVDVSHE
DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLV
KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ
QGNVFSCSVMHEALHYHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO: 26 **Secuencia de péptido de señal**

MGWSCIILFLVATATGVHS

SEQ ID NO: 27 CDRH1 de anticuerpo anti-TNF

DYAMH

SEQ ID NO: 28 CDRH2 de anticuerpo anti-TNF
AITWNSGHIDYADSVEG

SEQ ID NO: 29 CDRH3 de anticuerpo anti-TNF
VSYLSTASSLDY

SEQ ID NO: 30 CDRL1 de anticuerpo anti-TNF
RASQGIRNYLA

SEQ ID NO: 31 CDRL2 de anticuerpo anti-TNF
AASTLQS

SEQ ID NO: 32 CDRL3 de anticuerpo anti-TNF
QRYNRAPYT

SEQ ID NO: 33 variante de CDRH1 de anticuerpo anti-TNF
QYAMH

SEQ ID NO: 34 variante de CDRH1 de anticuerpo anti-TNF
HYALH

SEQ ID NO: 35 variante de CDRH1 de anticuerpo anti-TNF
HYAMH

SEQ ID NO: 36 variante de CDRH1 de anticuerpo anti-TNF
QHALH

SEQ ID NO: 37 variante de CDRH1 de anticuerpo anti-TNF
QHAMH

SEQ ID NO: 38 variante de CDRH1 de anticuerpo anti-TNF
DHALH

SEQ ID NO: 39 Cimzia (certolizumab) LC (VL + Ck)
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVGTNVAWYQQKPGKAPKALIYS
ASFLYSGVPYRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYNIYPLTFGQG

TKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN
ALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLS
SPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 40 variante de CDRH3 de anticuerpo anti-TNF
VHYLSTASQLHH

SEQ ID NO: 41 variante de CDRH3 de anticuerpo anti-TNF
VQYLSTASSLQS

SEQ ID NO: 42 variante de CDRH3 de anticuerpo anti-TNF
VKYLSTASSLHY

SEQ ID NO: 43 variante de CDRH3 de anticuerpo anti-TNF
VKYLSTASNLES

SEQ ID NO: 44 variante de CDRH3 de anticuerpo anti-TNF
VHYLSTASSLDY

SEQ ID NO: 45 variante de CDRH3 de anticuerpo anti-TNF
VSYLSTASSLQS

SEQ ID NO: 46 variante de CDRH3 de anticuerpo anti-TNF
VRYLSTASNLQH

SEQ ID NO: 47 variante de CDRH3 de anticuerpo anti-TNF
VQYLSTASQLHS

SEQ ID NO: 48 variante de CDRH3 de anticuerpo anti-TNF
VRYLSTASQLDY

SEQ ID NO: 49 variante de CDRH3 de anticuerpo anti-TNF
VRYLSTASSLDY

SEQ ID NO: 50 variante de CDRL1 de anticuerpo anti-TNF
HASKKIRNYLA

SEQ ID NO: 51 variante de CDRL1 de anticuerpo anti-TNF
HASRKLRNYLA

SEQ ID NO: 52 variante de CDRL1 de anticuerpo anti-TNF
HASRRLRNYLA

SEQ ID NO: 53 variante de CDRL1 de anticuerpo anti-TNF
HASKRIRNYLA

SEQ ID NO: 54 variante de CDRL1 de anticuerpo anti-TNF
HASRKIRNYLA

SEQ ID NO: 55 variante de CDRL1 de anticuerpo anti-TNF
HASRRIRNYLA

SEQ ID NO: 56 variante de CDRL1 de anticuerpo anti-TNF
HASREIRNYLA
SEQ ID NO: 57 variante de CDRL1 de anticuerpo anti-TNF
HASQGIRNYLA

SEQ ID NO: 58 variante de CDRL1 de anticuerpo anti-TNF
HASQKIRNYLA

SEQ ID NO: 59 variante de CDRL1 de anticuerpo anti-TNF
RASRGLRNYLA

SEQ ID NO: 60 variante de CDRL1 de anticuerpo anti-TNF
HASQRIRNYLA

SEQ ID NO: 61 variante de CDRL1 de anticuerpo anti-TNF
RASRRIRNYLA

SEQ ID NO: 62 variante de CDRL2 de anticuerpo anti-TNF
AASSLLR

SEQ ID NO: 63 variante de CDRL2 de anticuerpo anti-TNF
AASSLLK

SEQ ID NO: 64 variante de CDRL2 de anticuerpo anti-TNF
AASSLLP

SEQ ID NO: 65 variante de CDRL2 de anticuerpo anti-TNF
AASSLQP

SEQ ID NO: 66 variante de CDRL2 de anticuerpo anti-TNF
AASSLLH

SEQ ID NO: 67 variante de CDRL2 de anticuerpo anti-TNF
AASSFLP

SEQ ID NO: 68 variante de CDRL2 de anticuerpo anti-TNF
AASSLLQ

SEQ ID NO: 69 variante de CDRL2 de anticuerpo anti-TNF
AASSLQQ

SEQ ID NO: 70 variante de CDRL2 de anticuerpo anti-TNF
AASTLLK

SEQ ID NO: 71 variante de CDRL2 de anticuerpo anti-TNF
AASSLQN

SEQ ID NO: 72 variante de CDRL2 de anticuerpo anti-TNF
AASSLQK

SEQ ID NO: 73 variante de CDRL3 de anticuerpo anti-TNF
QRYDRPPYT

SEQ ID NO: 74 variante de CDRL3 de anticuerpo anti-TNF
QRYDKPPYT

SEQ ID NO: 75 variante de CDRL3 de anticuerpo anti-TNF
QRYNRPPYT

SEQ ID NO: 76 variante de CDRL3 de anticuerpo anti-TNF

QRYNKPPYT

SEQ ID NO: 77 Secuencia de polinucleótido de cb1-3-VH variante del dominio pesado variable de anticuerpo anti-TNF (también conocido como cb2-6-VH)

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCCGGCA
GAAGCCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCGACCAG
TACGCCATGCACTGGGTGAGGCAGGCCCCTGGCAAGGGCCTGGAGTG
GGTGTCCGCCATCACCTGGAATAGCGGCCACATCGACTACGCCGACA
GCGTGGAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACGCCAAGAACAGC
CTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTA
CTACTGTGCCAAGGTGTCCTACCTGAGCACCGCCAGCAGCCTGGACTA
CTGGGGCCAGGGCACACTAGTGACCGTGTCCAGC

SEQ ID NO: 78 Secuencia de proteína de cb1-3-VH variante del dominio pesado variable de anticuerpo anti-TNF (también conocido como cb2-6-VH)

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDQYAMHWVRQAPGKGLEWV
SAITWNSGHIDYADSVEGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKV
SYLSTASSLDYWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO: 79 Secuencia de polinucleótido de cb2-44-VH variante del dominio pesado variable de anticuerpo anti-TNF

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCCGGCA
GAAGCCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCGACGAC
CACGCCCTGCACTGGGTGAGGCAGGCCCCTGGCAAGGGCCTGGAGT
GGGTGTCCGCCATCACCTGGAATAGCGGCCACATCGACTACGCCGAC
AGCGTGGAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACGCCAAGAACAG
CCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGT
ACTACTGTGCCAAGGTGAGGTACCTGAGCACCGCCAGCAGCCTGGAC
TACTGGGGCCAGGGCACACTAGTGACCGTGTCCAGC

SEQ ID NO: 80 Secuencia de proteína de cb2-44-VH variante del dominio pesado variable de anticuerpo anti-TNF

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDHALHWVRQAPGKGLEWV
SAITWNSGHIDYADSVEGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKV
RYLSTASSLDYWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO: 81 Secuencia de polinucleótido de cb1-39-VH variante del dominio pesado variable de anticuerpo anti-TNF

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCCGGCA
GAAGCCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCGACCAC
TACGCCCTGCACTGGGTGAGGCAGGCCCCTGGCAAGGGCCTGGAGTG
GGTGTCCGCCATCACCTGGAATAGCGGCCACATCGACTACGCCGACA
GCGTGGAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACGCCAAGAACAGC
CTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTA
CTACTGTGCCAAGGTGTCCTACCTGAGCACCGCCAGCAGCCTGGACTA
CTGGGGCCAGGGCACACTAGTGACCGTGTCCAGC

SEQ ID NO: 82 Secuencia de proteína de cb1-39-VH variante del dominio pesado variable de anticuerpo anti-TNF

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDHYALHWVRQAPGKGLEWV
SAITWNSGHIDYADSVEGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKV
SYLSTASSLDYWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO: 83 Secuencia de polinucleótido de cb1-31-VH variante del dominio pesado variable de anticuerpo anti-TNF

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCCGGCA
GAAGCCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCGACGAC
TACGCCATGCACTGGGTGAGGCAGGCCCCTGGCAAGGGCCTGGAGTG
GGTGTCCGCCATCACCTGGAATAGCGGCCACATCGACTACGCCGACA
GCGTGGAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACGCCAAGAACAGC
CTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTA
CTACTGTGCCAAGGTGCACTACCTGAGCACCGCCAGCCAACTGCACCA
CTGGGGCCAGGGCACACTAGTGACCGTGTCCAGC

SEQ ID NO: 84 Secuencia de proteína de cb1-31-VH variante del dominio pesado variable de anticuerpo anti-TNF

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWV
SAITWNSGHIDYADSVEGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKV
HYLSTASQLHHWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO: 85 Secuencia de polinucleótido de cb2-11-VH variante del dominio pesado variable de anticuerpo anti-TNF

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCCGGCA
GAAGCCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCGACCAC
TACGCCATGCACTGGGTGAGGCAGGCCCCTGGCAAGGGCCTGGAGTG
GGTGTCCGCCATCACCTGGAATAGCGGCCACATCGACTACGCCGACA
GCGTGGAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACGCCAAGAACAGC
CTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTA
CTACTGTGCCAAGGTGCAGTACCTGAGCACCGCCAGCAGCCTGCAGA
GCTGGGGCCAGGGCACACTAGTGACCGTGTCCAGC

SEQ ID NO: 86 Secuencia de proteína de cb2-11-VH variante del dominio pesado variable de anticuerpo anti-TNF

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDHYAMHWVRQAPGKGLEWV
SAITWNSGHIDYADSVEGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKV
QYLSTASSLQSWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO: 87 Secuencia de polinucleótido de cb2-40-VH variante del dominio pesado variable de anticuerpo anti-TNF

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCCGGCA
GAAGCCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCGACCAG
TACGCCATGCACTGGGTGAGGCAGGCCCCTGGCAAGGGCCTGGAGTG
GGTGTCCGCCATCACCTGGAATAGCGGCCACATCGACTACGCCGACA
GCGTGGAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACGCCAAGAACAGC
CTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTA
CTACTGTGCCAAGGTGAAGTACCTGAGCACCGCCAGCAGCCTGCACTA
CTGGGGCCAGGGCACACTAGTGACCGTGTCCAGC

SEQ ID NO: 88 Secuencia de proteína de cb2-40-VH variante del dominio pesado variable de anticuerpo anti-TNF

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDQYAMHWVRQAPGKGLEWV
SAITWNSGHIDYADSVEGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKV
KYLSTASSLHYWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO: 89 Secuencia de polinucleótido de cb2-35-VH variante del dominio pesado variable de anticuerpo anti-TNF

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCCGGCA
GAAGCCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCGACCAG
CACGCCCTGCACTGGGTGAGGCAGGCCCCTGGCAAGGGCCTGGAGT

GGGTGTCCGCCATCACCTGGAATAGCGGCCACATCGACTACGCCGAC
AGCGTGGAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACGCCAAGAACAG
CCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGT
ACTACTGTGCCAAGGTGCACTACCTGAGCACCGCCAGCAGCCTGGACT
ACTGGGGCCAGGGCACACTAGTGACCGTGTCCAGC

SEQ ID NO: 90 Secuencia de proteína de cb2-35-VH variante del dominio pesado variable de anticuerpo anti-TNF

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDQHALHWVRQAPGKGLEWV
SAITWNSGHIDYADSVEGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKV
HYLSTASSLDYWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO: 91 Secuencia de polinucleótido de cb2-28-VH variante del dominio pesado variable de anticuerpo anti-TNF

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCCGGCA
GAAGCCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCGACCAG
TACGCCATGCACTGGGTGAGGCAGGCCCCTGGCAAGGGCCTGGAGTG
GGTGTCCGCCATCACCTGGAATAGCGGCCACATCGACTACGCCGACA
GCGTGGAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACGCCAAGAACAGC
CTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTA
CTACTGTGCCAAGGTGCACTACCTGAGCACCGCCAGCCAGCTGCACC
ACTGGGGCCAGGGCACACTAGTGACCGTGTCCAGC

SEQ ID NO: 92 Secuencia de proteína de cb2-28-VH variante del dominio pesado variable de anticuerpo anti-TNF

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDQYAMHWVRQAPGKGLEWV
SAITWNSGHIDYADSVEGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKV
HYLSTASQLHHWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO: 93 Secuencia de polinucleótido de cb2-38-VH variante del dominio pesado variable de anticuerpo anti-TNF

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCCGGCA
GAAGCCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCGACCAG
CACGCCATGCACTGGGTGAGGCAGGCCCCTGGCAAGGGCCTGGAGT
GGGTGTCCGCCATCACCTGGAATAGCGGCCACATCGACTACGCCGAC
AGCGTGGAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACGCCAAGAACAG
CCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGT

ACTACTGTGCCAAGGTGTCCTACCTGAGCACCGCCAGCAGCCTGGACT
ACTGGGGCCAGGGCACACTAGTGACCGTGTCCAGC

SEQ ID NO: 94 Secuencia de proteína de cb2-38-VH variante del dominio pesado variable de anticuerpo anti-TNF

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDQHAMHWVRQAPGKGLEWV
SAITWNSGHIDYADSVEGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKV
SYLSTASSLDYWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO: 95 Secuencia de polinucleótido de cb2-20-VH variante del dominio pesado variable de anticuerpo anti-TNF

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCCGGCA
GAAGCCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCGACCAG
TACGCCATGCACTGGGTGAGGCAGGCCCCTGGCAAGGGCCTGGAGTG
GGTGTCCGCCATCACCTGGAATAGCGGCCACATCGACTACGCCGACA
GCGTGGAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACGCCAAGAACAGC
CTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTA
CTACTGTGCCAAGGTGAAGTACCTGAGCACCGCCAGCAACCTGGAGA
GCTGGGGCCAGGGCACACTAGTGACCGTGTCCAGC

SEQ ID NO: 96 Secuencia de proteína de cb2-20-VH variante del dominio pesado variable de anticuerpo anti-TNF

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDQYAMHWVRQAPGKGLEWV
SAITWNSGHIDYADSVEGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKV
KYLSTASNLESWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO: 97 Secuencia de polinucleótido de cb1-8-VL variante del dominio ligero variable de anticuerpo anti-TNF

GATATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCTCTGTGGG
CGATAGAGTGACCATCACCTGCCACGCCAGCAAGAAGATCAGAAACTA
CCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGCCCCTAAGCTGCTGA
TCTACGCCGCCAGCAGCCTGCTGAGGGGCGTGCCCAGCAGATTCAGC
GGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGCA
GCCCGAGGACGTGGCCACCTACTACTGCCAGCGGTACGACAGACCCC
CTTACACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAGATCAAGCGTACG

SEQ ID NO: 98 Secuencia de proteína de cb1-8-VL variante del dominio

ligero variable de anticuerpo anti-TNF

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASKKIRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAA
SSLLRGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQRYDRPPYTFGQG
TKVEIKRT

SEQ ID NO: 99 Secuencia de polinucleótido de cb1-43-VL variante del dominio ligero variable de anticuerpo anti-TNF

GATATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCTCTGTGGG
CGATAGAGTGACCATCACCTGCCACGCCAGCAGGAAGCTGAGAAACTA
CCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGCCCCTAAGCTGCTGA
TCTACGCCGCCAGCAGCCTGCTGAAGGGCGTGCCCAGCAGATTCAGC
GGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGCA
GCCCGAGGACGTGGCCACCTACTACTGCCAGCGGTACGACAGACCCC
CTTACACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAGATCAAGCGTACG

SEQ ID NO: 100 Secuencia de proteína de cb1-43-VL variante del dominio ligero variable de anticuerpo anti-TNF

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASRKLRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAA
SSLLKGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQRYDRPPYTFGQG
TKVEIKRT

SEQ ID NO: 101 Secuencia de polinucleótido de cb1-45-VL variante del dominio ligero variable de anticuerpo anti-TNF

GATATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCTCTGTGGG
CGATAGAGTGACCATCACCTGCCACGCCAGCAGGAGGCTGAGAAACT
ACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGCCCCTAAGCTGCTG
ATCTACGCCGCCAGCAGCCTGCTGCCCGGCGTGCCCAGCAGATTCAG
CGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGC
AGCCCGAGGACGTGGCCACCTACTACTGCCAGCGGTACGACAGACCC
CCTTACACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAGATCAAGCGTACG

SEQ ID NO: 102 Secuencia de proteína de cb1-45-VL variante del dominio ligero variable de anticuerpo anti-TNF

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASRRLRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAA
SSLLPGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQRYDRPPYTFGQG
TKVEIKRT

SEQ ID NO: 103 Secuencia de polinucleótido de cb1-4-VL variante del dominio ligero variable de anticuerpo anti-TNF

GATATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCTCTGTGGG
CGATAGAGTGACCATCACCTGCCACGCCAGCAGGAAGCTGAGAAACTA
CCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGCCCCTAAGCTGCTGA
TCTACGCCGCCAGCAGCCTGCTGAGGGGCGTGCCCAGCAGATTCAGC
GGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGCA
GCCCGAGGACGTGGCCACCTACTACTGCCAGCGGTACGACAGACCCC
CTTACACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAGATCAAGCGTACG

SEQ ID NO: 104 Secuencia de proteína de cb1-4-VL variante del dominio ligero variable de anticuerpo anti-TNF

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASRKLRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAA
SSLLRGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQRYDRPPYTFGQG
TKVEIKRT

SEQ ID NO: 105 Secuencia de polinucleótido de cb1-41-VL variante del dominio ligero variable de anticuerpo anti-TNF

GATATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCTCTGTGGG
CGATAGAGTGACCATCACCTGCCACGCCAGCAAGAGGATCAGAAACTA
CCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGCCCCTAAGCTGCTGA
TCTACGCCGCCAGCAGCCTGCTGAAGGGCGTGCCCAGCAGATTCAGC
GGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGCA
GCCCGAGGACGTGGCCACCTACTACTGCCAGCGGTACGACAAGCCCC
CTTACACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAGATCAAGCGTACG

SEQ ID NO: 106 Secuencia de proteína de cb1-41-VL variante del dominio ligero variable de anticuerpo anti-TNF

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASKRIRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAA
SSLLKGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQRYDKPPYTFGQG
TKVEIKRT

SEQ ID NO: 107 Secuencia de polinucleótido de cb1-37-VL variante del dominio ligero variable de anticuerpo anti-TNF

GATATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCTCTGTGGG
CGATAGAGTGACCATCACCTGCCACGCCAGCAGGAAGCTGAGAAACTA
CCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGCCCCTAAGCTGCTGA

TCTACGCCGCCAGCAGCCTGCTGAGGGGCGTGCCCAGCAGATTCAGC
GGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGCA
GCCCGAGGACGTGGCCACCTACTACTGCCAGCGGTACAACAGACCCC
CTTACACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAGATCAAGCGTACG

SEQ ID NO: 108 Secuencia de proteína de cb1-37-VL variante del dominio ligero variable de anticuerpo anti-TNF

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASRKLRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAA
SSLLRGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQRYNRPPYTFGQG
TKVEIKRT

SEQ ID NO: 109 Secuencia de polinucleótido de cb1-39-VL variante del dominio ligero variable de anticuerpo anti-TNF

GATATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCTCTGTGGG
CGATAGAGTGACCATCACCTGCCACGCCAGCAGGAAGATCAGAAACTA
CCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGCCCCTAAGCTGCTGA
TCTACGCCGCCAGCAGCCTGCAGCCCGGCGTGCCCAGCAGATTCAGC
GGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGCA
GCCCGAGGACGTGGCCACCTACTACTGCCAGCGGTACGACAGACCCC
CTTACACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAGATCAAGCGTACG

SEQ ID NO: 110 Secuencia de proteína de cb1-39-VL variante del dominio ligero variable de anticuerpo anti-TNF

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASRKIRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAA
SSLQPGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQRYDRPPYTFGQG
TKVEIKRT

SEQ ID NO: 111 Secuencia de polinucleótido de cb1-33-VL variante del dominio ligero variable de anticuerpo anti-TNF

GATATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCTCTGTGGG
CGATAGAGTGACCATCACCTGCCACGCCAGCAGGAGGATCAGAAACTA
CCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGCCCCTAAGCTGCTGA
TCTACGCCGCCAGCAGCCTGCTGCACGGCGTGCCCAGCAGATTCAGC
GGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGCA
GCCCGAGGACGTGGCCACCTACTACTGCCAGCGGTACGACAGACCCC
CTTACACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAGATCAAGCGTACG

SEQ ID NO: 112 Secuencia de proteína de cb1-33-VL variante del

dominio ligero variable de anticuerpo anti-TNF

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASRRIRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAA
SSLLHGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQRYDRPPYTFGQG
TKVEIKRT

SEQ ID NO: 113 Secuencia de polinucleótido de cb1-35-VL variante del dominio ligero variable de anticuerpo anti-TNF

GATATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCTCTGTGGG
CGATAGAGTGACCATCACCTGCCACGCCAGCAGGAGGCTGAGAAACT
ACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGCCCCTAAGCTGCTG
ATCTACGCCGCCAGCAGCCTGCAGCCCGGCGTGCCCAGCAGATTCAG
CGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGC
AGCCCGAGGACGTGGCCACCTACTACTGCCAGCGGTACGACAGACCC
CCTTACACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAGATCAAGCGTACG

SEQ ID NO: 114 Secuencia de proteína de cb1-35-VL variante del dominio ligero variable de anticuerpo anti-TNF

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASRRLRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAA
SSLQPGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQRYDRPPYTFGQG
TKVEIKRT

SEQ ID NO: 115 Secuencia de polinucleótido de cb1-31-VL variante del dominio ligero variable de anticuerpo anti-TNF

GATATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCTCTGTGGG
CGATAGAGTGACCATCACCTGCCACGCCAGCAGGAGGCTGAGAAACT
ACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGCCCCTAAGCTGCTG
ATCTACGCCGCCAGCAGCCTGCTGAAGGGCGTGCCCAGCAGATTCAG
CGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGC
AGCCCGAGGACGTGGCCACCTACTACTGCCAGCGGTACAACAAGCCC
CCTTACACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAGATCAAGCGTACG

SEQ ID NO: 116 Secuencia de proteína de cb1-31-VL variante del dominio ligero variable de anticuerpo anti-TNF

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASRRLRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAA
SSLLKGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQRYNKPPYTFGQG
TKVEIKRT

SEQ ID NO: 117 Secuencia de polinucleótido de cb1-29-VL variante del

dominio ligero variable de anticuerpo anti-TNF

GATATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCTCTGTGGG
CGATAGAGTGACCATCACCTGCCACGCCAGCAGGAAGATCAGAAACTA
CCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGCCCCTAAGCTGCTGA
TCTACGCCGCCAGCAGCTTCCTGCCCGGCGTGCCCAGCAGATTCAGC
GGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGCA
GCCCGAGGACGTGGCCACCTACTACTGCCAGCGGTACGACAGACCCC
CTTACACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAGATCAAGCGTACG

SEQ ID NO: 118 Secuencia de proteína de cb1-29-VL variante del dominio ligero variable de anticuerpo anti-TNF

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASRKIRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAA
SSFLPGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQRYDRPPYTFGQG
TKVEIKRT

SEQ ID NO: 119 Secuencia de polinucleótido de cb1-22-VL variante del dominio ligero variable de anticuerpo anti-TNF

GATATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCTCTGTGGG
CGATAGAGTGACCATCACCTGCCACGCCAGCAAGAAGATCAGAAACTA
CCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGCCCCTAAGCTGCTGA
TCTACGCCGCCAGCAGCCTGCAGCCCGGCGTGCCCAGCAGATTCAGC
GGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGCA
GCCCGAGGACGTGGCCACCTACTACTGCCAGCGGTACGACAGACCCC
CTTACACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAGATCAAGCGTACG

SEQ ID NO: 120 Secuencia de proteína de cb1-22-VL variante del dominio ligero variable de anticuerpo anti-TNF

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASKKIRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAA
SSLQPGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQRYDRPPYTFGQG
TKVEIKRT

SEQ ID NO: 121 Secuencia de polinucleótido de cb1-23-VL variante del dominio ligero variable de anticuerpo anti-TNF

GATATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCTCTGTGGG
CGATAGAGTGACCATCACCTGCCACGCCAGCAGGAGGATCAGAAACTA
CCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGCCCCTAAGCTGCTGA
TCTACGCCGCCAGCAGCCTGCTGCAGGGCGTGCCCAGCAGATTCAGC
GGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGCA

GCCCGAGGACGTGGCCACCTACTACTGCCAGCGGTACGACAGACCCC
CTTACACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAGATCAAGCGTACG

SEQ ID NO: 122 Secuencia de proteína de cb1-23-VL variante del dominio ligero variable de anticuerpo anti-TNF

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASRRIRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAA
SSLLQGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQRYDRPPYTFGQG
TKVEIKRT

SEQ ID NO: 123 Secuencia de polinucleótido de cb1-12-VL variante del dominio ligero variable de anticuerpo anti-TNF

GATATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCTCTGTGGG
CGATAGAGTGACCATCACCTGCCACGCCAGCAGGAAGCTGAGAAACTA
CCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGCCCCTAAGCTGCTGA
TCTACGCCGCCAGCAGCCTGCAGCAGGGCGTGCCCAGCAGATTCAGC
GGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGCA
GCCCGAGGACGTGGCCACCTACTACTGCCAGCGGTACGACAGACCCC
CTTACACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAGATCAAGCGTACG

SEQ ID NO: 124 Secuencia de proteína de cb1-12-VL variante del dominio ligero variable de anticuerpo anti-TNF

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASRKLRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAA
SSLQQGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQRYDRPPYTFGQG
TKVEIKRT

SEQ ID NO: 125 Secuencia de polinucleótido de cb1-10-VL variante del dominio ligero variable de anticuerpo anti-TNF

GATATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCTCTGTGGG
CGATAGAGTGACCATCACCTGCCACGCCAGCAGGAAGCTGAGAAACTA
CCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGCCCCTAAGCTGCTGA
TCTACGCCGCCAGCAGCCTGCTGCCCGGCGTGCCCAGCAGATTCAGC
GGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGCA
GCCCGAGGACGTGGCCACCTACTACTGCCAGCGGTACGACAGACCCC
CTTACACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAGATCAAGCGTACG

SEQ ID NO: 126 Secuencia de proteína de cb1-10-VL variante del dominio ligero variable de anticuerpo anti-TNF

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASRKLRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAA

SSLLPGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQRYDRPPYTFGQG
TKVEIKRT

SEQ ID NO: 127 Secuencia de polinucleótido de cb2-1-VL variante del dominio ligero variable de anticuerpo anti-TNF

GATATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCTCTGTGGG
CGATAGAGTGACCATCACCTGCCACGCCAGCAGGGAGATCAGAAACTA
CCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGCCCCTAAGCTGCTGA
TCTACGCCGCCAGCAGCCTGCTGCCCGGCGTGCCCAGCAGATTCAGC
GGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGCA
GCCCGAGGACGTGGCCACCTACTACTGCCAGCGGTACGACAGACCCC
CTTACACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAGATCAAGCGTACG

SEQ ID NO: 128 Secuencia de proteína de cb2-1-VL variante del dominio ligero variable de anticuerpo anti-TNF

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASREIRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAA
SSLLPGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQRYDRPPYTFGQG
TKVEIKRT

SEQ ID NO: 129 Secuencia de polinucleótido de cb2-11-VL variante del dominio ligero variable de anticuerpo anti-TNF

GATATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCTCTGTGGG
CGATAGAGTGACCATCACCTGCCACGCCAGCCAGGGCATCAGAAACTA
CCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGCCCCTAAGCTGCTGA
TCTACGCCGCCAGCACCCTGCTGAAGGGCGTGCCCAGCAGATTCAGC
GGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGCA
GCCCGAGGACGTGGCCACCTACTACTGCCAGCGGTACGACAGACCCC
CTTACACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAGATCAAGCGTACG

SEQ ID NO: 130 Secuencia de proteína de cb2-11-VL variante del dominio ligero variable de anticuerpo anti-TNF

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQGIRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAA
STLLKGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQRYDRPPYTFGQG
TKVEIKRT

SEQ ID NO: 131 Secuencia de polinucleótido de cb2-40-VL variante del dominio ligero variable de anticuerpo anti-TNF

GATATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCTCTGTGGG
CGATAGAGTGACCATCACCTGCCACGCCAGCCAGAAGATCAGAAACTA
CCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGCCCCTAAGCTGCTGA
TCTACGCCGCCAGCAGCCTGCAGCAGGGCGTGCCCAGCAGATTCAGC
GGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGCA
GCCCGAGGACGTGGCCACCTACTACTGCCAGCGGTACGACAGACCCC
CTTACACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAGATCAAGCGTACG

SEQ ID NO: 132 Secuencia de proteína de cb2-40-VL variante del dominio ligero variable de anticuerpo anti-TNF

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQKIRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAA
SSLQQGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQRYDRPPYTFGQG
TKVEIKRT

SEQ ID NO: 133 Secuencia de polinucleótido de cb2-35-VL variante del dominio ligero variable de anticuerpo anti-TNF

GATATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCTCTGTGGG
CGATAGAGTGACCATCACCTGCCACGCCAGCAGGAGGCTGAGAAACT
ACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGCCCCTAAGCTGCTG
ATCTACGCCGCCAGCAGCCTGCTGCACGGCGTGCCCAGCAGATTCAG
CGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGC
AGCCCGAGGACGTGGCCACCTACTACTGCCAGCGGTACGACAGACCC
CCTTACACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAGATCAAGCGTACG

SEQ ID NO: 134 Secuencia de proteína de cb2-35-VL variante del dominio ligero variable de anticuerpo anti-TNF

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASRRLRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAA
SSLLHGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQRYDRPPYTFGQG
TKVEIKRT

SEQ ID NO: 135 Secuencia de polinucleótido de cb2-28-VL variante del dominio ligero variable de anticuerpo anti-TNF

GATATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCTCTGTGGG
CGATAGAGTGACCATCACCTGCCACGCCAGCAGGAGGCTGAGAAACT
ACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGCCCCTAAGCTGCTG
ATCTACGCCGCCAGCAGCCTGCTGAAGGGCGTGCCCAGCAGATTCAG
CGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGC
AGCCCGAGGACGTGGCCACCTACTACTGCCAGCGGTACGACAGACCC

CCTTACACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAGATCAAGCGTACG

SEQ ID NO: 136 Secuencia de proteína de cb2-28-VL variante del dominio ligero variable de anticuerpo anti-TNF

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASRRLRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAA
SSLLKGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQRYDRPPYTFGQG
TKVEIKRT

SEQ ID NO: 137 Secuencia de polinucleótido de cb2-20-VL variante del dominio ligero variable de anticuerpo anti-TNF

GATATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCTCTGTGGG
CGATAGAGTGACCATCACCTGCCACGCCAGCAAGAGGATCAGAAACTA
CCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGCCCCTAAGCTGCTGA
TCTACGCCGCCAGCAGCCTGCTGAGGGGCGTGCCCAGCAGATTCAGC
GGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGCA
GCCCGAGGACGTGGCCACCTACTACTGCCAGCGGTACAACAAGCCCC
CTTACACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAGATCAAGCGTACG

SEQ ID NO: 138 Secuencia de proteína de cb2-20-VL variante del dominio ligero variable de anticuerpo anti-TNF

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASKRIRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAA
SSLLRGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQRYNKPPYTFGQG
TKVEIKRT

SEQ ID NO: 139 Secuencia de polinucleótido de cb1-3-VL variante del dominio ligero variable de anticuerpo anti-TNF

GATATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCTCTGTGGG
CGATAGAGTGACCATCACCTGCCACGCCAGCAGGAAGATCAGAAACTA
CCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGCCCCTAAGCTGCTGA
TCTACGCCGCCAGCAGCCTGCTGAGGGGCGTGCCCAGCAGATTCAGC
GGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGCA
GCCCGAGGACGTGGCCACCTACTACTGCCAGCGGTACGACAAGCCCC
CTTACACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAGATCAAGCGTACG

SEQ ID NO: 140 Secuencia de proteína de cb1-3-VL variante del dominio ligero variable de anticuerpo anti-TNF

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASRKIRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAA
SSLLRGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQRYDKPPYTFGQG

TKVEIKRT

SEQ ID NO: 141 Secuencia de polinucleótido de cb2-6-VL variante del dominio ligero variable de anticuerpo anti-TNF

GATATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCTCTGTGGG
CGATAGAGTGACCATCACCTGCCACGCCAGCAAGAGGATCAGAAACTA
CCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGCCCCTAAGCTGCTGA
TCTACGCCGCCAGCAGCCTGCTGAAGGGCGTGCCCAGCAGATTCAGC
GGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGCA
GCCCGAGGACGTGGCCACCTACTACTGCCAGCGGTACAACAAGCCCC
CTTACACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAGATCAAGCGTACG

SEQ ID NO: 142 Secuencia de proteína de cb2-6-VL variante del dominio ligero variable de anticuerpo anti-TNF

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASKRIRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAA
SSLLKGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQRYNKPPYTFGQG
TKVEIKRT

SEQ ID NO: 143 Secuencia de polinucleótido de cb2-44-VL variante del dominio ligero variable de anticuerpo anti-TNF

GATATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCTCTGTGGG
CGATAGAGTGACCATCACCTGCCACGCCAGCAGGAAGATCAGAAACTA
CCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGCCCCTAAGCTGCTGA
TCTACGCCGCCAGCAGCCTGCTGCCCGGCGTGCCCAGCAGATTCAGC
GGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGCA
GCCCGAGGACGTGGCCACCTACTACTGCCAGCGGTACGACAGACCCC
CTTACACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAGATCAAGCGTACG

SEQ ID NO: 144 Secuencia de proteína de cb2-44-VL variante del dominio ligero variable de anticuerpo anti-TNF

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASRKIRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAA
SSLLPGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQRYDRPPYTFGQG
TKVEIKRT

SEQ ID NO: 145 Secuencia de proteína de cb1-3-VH variante de la cadena pesada de anticuerpo anti-TNF más la modificación M252Y/S254T/T256E

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDQYAMHWVRQAPGKGLEWV

SAITWNSGHIDYADSVEGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKV
SYLSTASSLDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL
VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGT
QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP
KPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ
YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP
QVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP
VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP
GK

SEQ ID NO: 146 Secuencia de proteína de cb2-44-VH variante de la cadena pesada de anticuerpo anti-TNF más la modificación M252Y/S254T/T256E

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDHALHWVRQAPGKGLEWV
SAITWNSGHIDYADSVEGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKV
RYLSTASSLDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL
VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGT
QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP
KPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ
YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP
QVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP
VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP
GK

SEQ ID NO: 147 Secuencia de polinucleótido de cb1-3-VL variante de la cadena ligera de anticuerpo anti-TNF

GATATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCTCTGTGGG
CGATAGAGTGACCATCACCTGCCACGCCAGCAGGAAGATCAGAAACTA
CCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGCCCCTAAGCTGCTGA
TCTACGCCGCCAGCAGCCTGCTGAGGGGCGTGCCCAGCAGATTCAGC
GGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGCA
GCCCGAGGACGTGGCCACCTACTACTGCCAGCGGTACGACAAGCCCC
CTTACACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAGATCAAGCGTACGGTG
GCCGCCCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCCCAGCGATGAGCAGCTGAA
GAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGTCTGCTGAACAACTTCTACCCCC
GGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAATGCCCTGCAGAGCGG
CAACAGCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCAAGGACTCCACCT

ACAGCCTGAGCAGCACCCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAG
CACAAGGTGTACGCCTGTGAGGTGACCCACCAGGGCCTGTCCAGCCC
CGTGACCAAGAGCTTCAACCGGGGCGAGTGC

SEQ ID NO: 148 Secuencia de proteína de cb1-3-VL variante de la cadena ligera de anticuerpo anti-TNF

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASRKIRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAA
SSLLRGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQRYDKPPYTFGQG
TKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN
ALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLS
SPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 149 Secuencia de polinucleótido de cb2-6-VL variante de la cadena ligera de anticuerpo anti-TNF

GATATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCTCTGTGGG
CGATAGAGTGACCATCACCTGCCACGCCAGCAAGAGGATCAGAAACTA
CCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGCCCCTAAGCTGCTGA
TCTACGCCGCCAGCAGCCTGCTGAAGGGCGTGCCCAGCAGATTCAGC
GGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGCA
GCCCGAGGACGTGGCCACCTACTACTGCCAGCGGTACAACAAGCCCC
CTTACACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAGATCAAGCGTACGGTG
GCCGCCCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCCCAGCGATGAGCAGCTGAA
GAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGTCTGCTGAACAACTTCTACCCCC
GGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAATGCCCTGCAGAGCGG
CAACAGCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCAAGGACTCCACCT
ACAGCCTGAGCAGCACCCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAG
CACAAGGTGTACGCCTGTGAGGTGACCCACCAGGGCCTGTCCAGCCC
CGTGACCAAGAGCTTCAACCGGGGCGAGTGC

SEQ ID NO: 150 Secuencia de proteína de cb2-6-VL variante de la cadena ligera de anticuerpo anti-TNF

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASKRIRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAA
SSLLKGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQRYNKPPYTFGQG
TKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN
ALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLS
SPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 151 Secuencia de polinucleótido de cb2-44-VL variante de

la cadena ligera de anticuerpo anti-TNF

GATATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCTCTGTGGG
CGATAGAGTGACCATCACCTGCCACGCCAGCAGGAAGATCAGAAACTA
CCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGCCCCTAAGCTGCTGA
TCTACGCCGCCAGCAGCCTGCTGCCCGGCGTGCCCAGCAGATTCAGC
GGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGCA
GCCCGAGGACGTGGCCACCTACTACTGCCAGCGGTACGACAGACCCC
CTTACACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAGATCAAGCGTACGGTG
GCCGCCCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCCCAGCGATGAGCAGCTGAA
GAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGTCTGCTGAACAACTTCTACCCCC
GGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAATGCCCTGCAGAGCGG
CAACAGCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCAAGGACTCCACCT
ACAGCCTGAGCAGCACCCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAG
CACAAGGTGTACGCCTGTGAGGTGACCCACCAGGGCCTGTCCAGCCC
CGTGACCAAGAGCTTCAACCGGGGCGAGTGC

SEQ ID NO: 152 Secuencia de proteína de cb2-44-VL variante de la cadena ligera de anticuerpo anti-TNF

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASRKIRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAA
SSLLPGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQRYDRPPYTFGQG
TKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN
ALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLS
SPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 153 Secuencia de polinucleótido de cb1-3-VH variante de la cadena pesada de anticuerpo anti-TNF

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCCGGCA
GAAGCCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCGACCAG
TACGCCATGCACTGGGTGAGGCAGGCCCCTGGCAAGGGCCTGGAGTG
GGTGTCCGCCATCACCTGGAATAGCGGCCACATCGACTACGCCGACA
GCGTGGAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACGCCAAGAACAGC
CTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTA
CTACTGTGCCAAGGTGTCCTACCTGAGCACCGCCAGCAGCCTGGACTA
CTGGGGCCAGGGCACACTAGTGACCGTGTCCAGCGCCAGCACCAAGG
GCCCCAGCGTGTTCCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACCAGCGGC
GGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAACC
GGTGACCGTGTCCTGGAACAGCGGAGCCCTGACCAGCGGCGTGCACA

CCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACAGCCTGAGCAGC
GTGGTGACCGTGCCCAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTG
TAACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGG
AGCCCAAGAGCTGTGACAAGACCCACACCTGCCCCCCCTGCCCTGCC
CCCGAGCTGCTGGGAGGCCCCAGCGTGTTCCTGTTCCCCCCCAAGCC
TAAGGACACCCTGATGATCAGCAGAACCCCCGAGGTGACCTGTGTGGT
GGTGGATGTGAGCCACGAGGACCCTGAGGTGAAGTTCAACTGGTACG
TGGACGGCGTGGAGGTGCACAATGCCAAGACCAAGCCCAGGGAGGAG
CAGTACAACAGCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCA
CCAGGATTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGTAAGGTGTCCAACAA
GGCCCTGCCTGCCCCTATCGAGAAAACCATCAGCAAGGCCAAGGGCC
AGCCCAGAGAGCCCCAGGTGTACACCCTGCCCCCTAGCAGAGATGAG
CTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGCCTGGTGAAGGGCTTCTAC
CCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCCGAGA
ACAACTACAAGACCACCCCCCCTGTGCTGGACAGCGATGGCAGCTTCT
TCCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGAGCAGATGGCAGCAGGGC
AACGTGTTCAGCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAATCACTAC
ACCCAGAAGAGCCTGAGCCTGTCCCCTGGCAAG

SEQ ID NO: 154 Secuencia de proteína de cb1-3-VH variante de la cadena pesada de anticuerpo anti-TNF

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDQYAMHWVRQAPGKGLEWV
SAITWNSGHIDYADSVEGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKV
SYLSTASSLDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL
VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGT
QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP
KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ
YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP
QVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP
VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP
GK

SEQ ID NO: 155 Secuencia de polinucleótido de cb2-44-VH variante de la cadena pesada de anticuerpo anti-TNF

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCCGGCA
GAAGCCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCGACGAC
CACGCCCTGCACTGGGTGAGGCAGGCCCCTGGCAAGGGCCTGGAGT

GGGTGTCCGCCATCACCTGGAATAGCGGCCACATCGACTACGCCGAC
AGCGTGGAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACGCCAAGAACAG
CCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGT
ACTACTGTGCCAAGGTGAGGTACCTGAGCACCGCCAGCAGCCTGGAC
TACTGGGGCCAGGGCACACTAGTGACCGTGTCCAGCGCCAGCACCAA
GGGCCCCAGCGTGTTCCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACCAGCG
GCGGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAA
CCGGTGACCGTGTCCTGGAACAGCGGAGCCCTGACCAGCGGCGTGCA
CACCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACAGCCTGAGCA
GCGTGGTGACCGTGCCCAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATC
TGTAACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTG
GAGCCCAAGAGCTGTGACAAGACCCACACCTGCCCCCCCTGCCCTGC
CCCCGAGCTGCTGGGAGGCCCCAGCGTGTTCCTGTTCCCCCCCAAGC
CTAAGGACACCCTGATGATCAGCAGAACCCCCGAGGTGACCTGTGTG
GTGGTGGATGTGAGCCACGAGGACCCTGAGGTGAAGTTCAACTGGTA
CGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAATGCCAAGACCAAGCCCAGGGAG
GAGCAGTACAACAGCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCT
GCACCAGGATTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGTAAGGTGTCCAA
CAAGGCCCTGCCTGCCCCTATCGAGAAAACCATCAGCAAGGCCAAGG
GCCAGCCCAGAGAGCCCCAGGTGTACACCCTGCCCCCTAGCAGAGAT
GAGCTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGCCTGGTGAAGGGCTT
CTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCCG
AGAACAACTACAAGACCACCCCCCCTGTGCTGGACAGCGATGGCAGCT
TCTTCCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGAGCAGATGGCAGCAG
GGCAACGTGTTCAGCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAATCAC
TACACCCAGAAGAGCCTGAGCCTGTCCCCTGGCAAG

SEQ ID NO: 156 Secuencia de proteína de cb2-44-VH variante de la cadena pesada de anticuerpo anti-TNF

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDHALHWVRQAPGKGLEWV
SAITWNSGHIDYADSVEGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKV
RYLSTASSLDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL
VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGT
QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP
KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ
YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP
QVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP

VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP
GK

SEQ ID NO: 157 Secuencia de polinucleótido de la cadena pesada de pascolizumab que contiene las modificaciones M252Y/S254T/T256E

CAGGTGACCCTGAGGGAGAGCGGCCCCGCCCTGGTGAAGCCCACCC
AGACCCTGACCCTGACCTGCACCTTCAGCGGCTTTAGCCTCAGCACCT
CCGGCATGGGCGTGAGCTGGATCAGGCAGCCACCCGGCAAAGGCCT
GGAGTGGCTGGCCCACATCTACTGGGACGACGACAAGAGGTACAACC
CCAGCCTGAAGAGCCGGCTGACCATCAGCAAGGATACCAGCAGGAAC
CAGGTGGTGCTGACCATGACCAACATGGACCCCGTGGACACCGCTAC
CTACTACTGCGCCAGGAGGGAGACCGTCTTCTACTGGTACTTCGACGT
GTGGGGAAGGGGCACACTAGTGACCGTGTCCAGCGCCAGCACCAAGG
GCCCCAGCGTGTTCCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACCAGCGGC
GGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAACC
GGTGACCGTGTCCTGGAACAGCGGAGCCCTGACCAGCGGCGTGCACA
CCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACAGCCTGAGCAGC
GTGGTGACCGTGCCCAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTG
TAACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGG
AGCCCAAGAGCTGTGACAAGACCCACACCTGCCCCCCCTGCCCTGCC
CCCGAGCTGCTGGGAGGCCCCAGCGTGTTCCTGTTCCCCCCCAAGCC
TAAGGACACCCTGtacATCacCAGAgagCCCGAGGTGACCTGTGTGGTGG
TGGATGTGAGCCACGAGGACCCTGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGTG
GACGGCGTGGAGGTGCACAATGCCAAGACCAAGCCCAGGGAGGAGCA
GTACAACAGCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACC
AGGATTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGTAAGGTGTCCAACAAGG
CCCTGCCTGCCCCTATCGAGAAAACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAG
CCCAGAGAGCCCCAGGTGTACACCCTGCCCCCTAGCAGAGATGAGCT
GACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGCCTGGTGAAGGGCTTCTACCC
CAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCCGAGAACA
ACTACAAGACCACCCCCCCTGTGCTGGACAGCGATGGCAGCTTCTTCC
TGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGAGCAGATGGCAGCAGGGCAAC
GTGTTCAGCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAATCACTACACC
CAGAAGAGCCTGAGCCTGTCCCCTGGCAAG

SEQ ID NO: 158 Secuencia de proteína de la cadena pesada de pascolizumab que contiene las modificaciones M252Y/S254T/T256E

QVTLRESGPALVKPTQTLTLTCTFSGFSLSTSGMGVSWIRQPPGKGLEWL
AHIYWDDDKRYNPSLKSRLTISKDTSRNQVVLTMTNMDPVDTATYYCARR
ETVFYWYFDVWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV
KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQ
TYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKP
KDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN
STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV
YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVL
DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO: 159 Secuencia de polinucleótido de la cadena ligera de pascolizumab

GACATCGTGCTGACCCAGAGCCCCTCTTCCCTGAGCGCAAGCGTGGG
CGATAGGGTGACCATCACCTGCAAGGCCAGCCAGAGCGTGGACTACG
ACGGCGACAGCTACATGAACTGGTACCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCC
CCCAAACTGCTGATCTACGCCGCCAGCAACCTCGAGTCAGGCATTCCC
AGCAGGTTTAGCGGCAGCGGCAGCGGCACCGACTTCACCTTCACAAT
CAGCAGCCTGCAGCCCGAGGACATCGCCACCTACTACTGCCAGCAGA
GCAACGAGGACCCTCCCACCTTCGGACAGGGCACCAAGGTCGAGATC
AAGCGTACGGTGGCCGCCCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCCCAGCGA
TGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGTCTGCTGAACA
ACTTCTACCCCCGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAATGCC
CTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCAA
GGACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCTGACCCTGAGCAAGGCCG
ACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGTGAGGTGACCCACCAGGGC
CTGTCCAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACCGGGGCGAGTGC

SEQ ID NO: 160 Secuencia de proteína de la cadena ligera de pascolizumab

DIVLTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQSVDYDGDSYMNWYQQKPGKAPKL
LIYAASNLESGIPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQSNEDPPTF
GQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWK
VDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQ
GLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 161 Secuencia de proteína de la cadena pesada de pascolizumab

QVTLRESGPALVKPTQTLTLTCTFSGFSLSTSGMGVSWIRQPPGKGLEWL
AHIYWDDDKRYNPSLKSRLTISKDTSRNQVVLTMTNMDPVDTATYYCARR
ETVFYWYFDVWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV
KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQ
TYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKP
KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY
NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP
QVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP
VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP
GK

SEQ ID NO: 162 Secuencia de proteína alternativa de la cadena pesada de anticuerpo anti-TNF más la modificación M428L/N434S

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWV
SAITWNSGHIDYADSVEGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKV
SYLSTASSLDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL
VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGT
QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP
KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ
YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP
QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP
VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPG
K

SEQ ID NO: 163 Secuencia de proteína alternativa del dominio constante de IgG1 más la modificación M428L/N434S

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV
HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPK
SCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE
DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV
KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ
QGNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO: 164 Secuencia de proteína de la cadena pesada de anticuerpo anti-TNF más la modificación H433K/N434F

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWV

SAITWNSGHIDYADSVEGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKV
SYLSTASSLDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL
VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGT
QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP
KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ
YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP
QVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP
VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALKFHYTQKSLSLSP
GK

SEQ ID NO: 165 Secuencia de proteína del dominio constante de IgG1 más la modificación H433K/N434F

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV
HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPK
SCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE
DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLV
KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ
QGNVFSCSVMHEALKFHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO: 166 Secuencia de proteína alternativa de la cadena pesada de anticuerpo anti-TNF más la modificación H433K/N434F

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWV
SAITWNSGHIDYADSVEGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKV
SYLSTASSLDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL
VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGT
QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP
KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ
YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP
QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP
VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALKFHYTQKSLSLSP
GK

SEQ ID NO: 167 Secuencia de proteína alternativa del dominio constante de IgG1 más la modificación H433K/N434F

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV
HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPK

SCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE
DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV
KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ
QGNVFSCSVMHEALKFHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO: 168 Secuencia de proteína alternativa de la cadena pesada de anticuerpo anti-TNF más la modificación M428L/N434S

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWV
SAITWNSGHIDYADSVEGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKV
SYLSTASSLDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL
VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGT
QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPK
PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ
FNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREP
QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP
MLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSP
GK

SEQ ID NO: 169 Secuencia de proteína alternativa del dominio constante de IgG1/2 más la modificación M428L/N434S

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV
HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPK
SCDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE
DPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKE
YKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV
KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ
QGNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO: 170 Golimumab_VH

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFIFSSYAMHWVRQAPGNGLEWV
AFMSYDGSNKKYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR
DRGIAAGGNYYYYGMDVWGQGTTVTVSS

SEQ ID NO: 171 Golimumab_VL

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVYSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDA
SNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPPFTFGP

GTKVDIKRT

SEQ ID NO: 172 Golimumab_HC

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFIFSSYAMHWVRQAPGNGLEWV
AFMSYDGSNKKYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR
DRGIAAGGNYYYYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG
TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTV
PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGP
SVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK
TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN
NYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ
KSLSLSPGK

SEQ ID NO: 173 Golimumab_LC

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVYSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDA
SNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPPFTFGP
GTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD
NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGL
SSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 174 Remicade_VH

EVKLEESGGGLVQPGGSMKLSCVASGFIFSNHWMNWVRQSPEKGLEWV
AEIRSKSINSATHYAESVKGRFTISRDDSKSAVYLQMTDLRTEDTGVYYCS
RNYYGSTYDYWGQGTTLTVSS

SEQ ID NO: 175 Remicade_VL

DILLTQSPAILSVSPGERVSFSCRASQFVGSSIHWYQQRTNGSPRLLIKYAS
ESMSGIPSRFSGSGSGTDFTLSINTVESEDIADYYCQQSHSWPFTFGSGT
NLEVKRT

SEQ ID NO: 176 Remicade_HC

EVKLEESGGGLVQPGGSMKLSCVASGFIFSNHWMNWVRQSPEKGLEWV
AEIRSKSINSATHYAESVKGRFTISRDDSKSAVYLQMTDLRTEDTGVYYCS
RNYYGSTYDYWGQGTTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV
KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQ
TYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKP
KDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN

STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV
YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVL
DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO: 177 Remicade_LC

DILLTQSPAILSVSPGERVSFSCRASQFVGSSIHWYQQRTNGSPRLLIKYAS
ESMSGIPSRFSGSGSGTDFTLSINTVESEDIADYYCQQSHSWPFTFGSGT
NLEVKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN
ALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLS
SPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 178 Cimzia (certolizumab) VH

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYVFTDYGMNWVRQAPGKGLEWM
GWINTYIGEPIYADSVKGRFTFSLDTSKSTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARG
YRSYAMDYWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO: 179 Cimzia (certolizumab) VL

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVGTNVAWYQQKPGKAPKALIYS
ASFLYSGVPYRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYNIYPLTFGQG
TKVEIKRT

SEQ ID NO: 180 Cimzia (certolizumab) HC (VH+CH1)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYVFTDYGMNWVRQAPGKGLEWM
GWINTYIGEPIYADSVKGRFTFSLDTSKSTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARG
YRSYAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK
DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQT
YICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCAA

CAPÍTULO REIVINDICATORIO QUE CONTIENE LAS MODIFICACIONES HECHAS EN FASE INTERNACIONAL INDICADAS EN EL REPORTE PRELIMINAR INTERNACIONAL SOBRE PATENTABILIDAD

REIVINDICACIONES

1.- Una proteína de unión a antígeno la cual se une específicamente a TNF-alfa que comprende:

(i) CDRH1 (SEQ ID NO: 27), CDRH2 (SEQ ID NO: 28), CDRH3 (SEQ ID No: 29), CDRL1 (SEQ ID NO: 30), CDRL2 (SEQ ID NO: 31), y CDRL3 (SEQ ID NO: 32); o una variante de CDR de las mismas la cual contiene 1, 2, 3 ó 4 sustituciones, inserciones o deleciones de aminoácido en comparación con CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2, o CDRL3; y

(ii) una porción de unión al receptor Fc neonatal (FcRn) de un dominio constante de IgG1 de humano que comprende una o más sustituciones de aminoácido con relación al dominio constante de IgG1 de humano; en donde dichas una o más sustituciones de aminoácido es en los residuos 252, 254 y 256 numerados de conformidad con el Indice UE de Kabat y la sustitución en el residuo 252 es una sustitución con tyr, phe, trp o thr; la sustitución en el residuo 254 es una sustitución con thr; y la sustitución en el residuo 256 es una sustitución con ser, arg, glu, asp o thr y en donde la proteína de unión a antígeno tiene una afinidad de unión a FcRn incrementada a pH 6 y/o tiempo de vida media incrementado en comparación con una IgG que comprende la secuencia de la cadena ligera de SEQ ID No. 2 y la secuencia de la cadena pesada de SEQ ID No.12.

2.- Una proteína de unión a antígeno de conformidad con cualquier reivindicación precedente en donde la sustitución en el residuo 252 es una sustitución de met con tyr; la sustitución en el residuo 254 es una sustitución de ser con thr y la sustitución en el residuo 256 es una sustitución de thr con glu.

3.- Una proteína de unión a antígeno de conformidad con la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en donde la proteína de unión a antígeno tiene un tiempo de vida media incrementado en comparación con una IgG que comprende la secuencia de la cadena ligera de SEQ ID No. 2 y la secuencia de la cadena pesada de SEQ ID No. 12 y la proteína de unión a antígeno se puede administrar no más de una vez cada cuatro semanas para lograr concentración media mínima en estado constante comparable con aquella lograda por la misma dosis de la IgG que comprende la secuencia de la cadena ligera de SEQ ID No. 2 y la secuencia de la cadena pesada de SEQ ID No. 12 administrada una vez cada dos semanas

4.- Una proteína de unión a antígeno de conformidad con la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en donde la proteína de unión a antígeno

tiene una afinidad para FcRn 4 veces mayor que la de una proteína de unión a antígeno anti-TNF con las mismas CDRs sin dichas modificaciones a pH 6 según se evalúa mediante el sistema de arreglo de interacción de proteína ProteOn XPR36 a 25ºC, el sistema de arreglo tiene proteínas de unión a antígeno inmovilizadas en el chip.

5.- Una proteína de unión a antígeno de conformidad con la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en donde cuando la proteína de unión a antígeno se administra a los pacientes en una sola dosis de 40 mg a un intervalo de cuatro a ocho semanas, la concentración de anticuerpo media mínima en estado constante en la población de pacientes no cae por debajo de 5 µg/ml, de preferencia por debajo de 6 µg/ml, entre los intervalos de dosificación.

6.- Una proteína de unión a antígeno de conformidad con cualquier reivindicación precedente en donde el dominio constante de IgG1 de humano tiene la secuencia de SEQ ID No. 13 antes que se introduzcan las sustituciones de aminoácido.

7.- Una proteína de unión a antígeno de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 para uso como un medicamento para tratar enfermedad en donde la proteína de unión a antígeno se puede administrar a los pacientes no más de una vez cada cuatro semanas para lograr concentración media mínima en estado constante comparable con aquella lograda por la misma dosis de una IgG que comprende la secuencia de la cadena ligera de SEQ ID No. 2 y la secuencia de la cadena pesada de SEQ ID No.12 administrada una vez cada dos semanas.

8.- Una proteína de unión a antígeno de conformidad con cualquier reivindicación precedente para el tratamiento de una enfermedad en donde la proteína de unión a antígeno se administra a los pacientes en una sola dosis entre aproximadamente 35 hasta aproximadamente 45 mg en un intervalo de cuatro a ocho semanas.

9.- Una proteína de unión a antígeno de conformidad con la reivindicación 8 en donde la proteína de unión a antígeno se administra a los pacientes por vía subcutánea como una dosis individual de 40 mg no más de una vez cada cuatro semanas.

10.- Una proteína de unión a antígeno de conformidad con la reivindicación 8 o la reivindicación 9 en donde la proteína de unión a antígeno se administra a los pacientes por vía subcutánea como una dosis individual de 40 mg no más de una vez cada ocho semanas.

11.- Una proteína de unión a antígeno de conformidad con

cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 en donde el tiempo de vida media de la proteína de unión a antígeno está incrementado 2 veces, 3 veces, 4 veces o 5 veces en comparación con la IgG nativa.

12.- Una proteína de unión a antígeno de conformidad con cualquier reivindicación precedente en donde la administración de la proteína de unión a antígeno no más de una vez cada cuatro semanas en los pacientes logra la concentración media mínima en estado constante en la población de pacientes de entre aproximadamente 4 µg/ml hasta aproximadamente 7 µg/ml.

13.- Una proteína de unión a antígeno de conformidad con la reivindicación 12 en donde la concentración media mínima en estado constante está entre aproximadamente 5 µg/ml hasta aproximadamente 6 µg/ml.

14.- Una proteína de unión a antígeno de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13 en donde la depuración de la proteína de unión a antígeno es de aproximadamente 2 ml/hr hasta aproximadamente 4 ml/hr

15.- Una proteína de unión a antígeno de conformidad con cualquier reivindicación precedente que comprende un dominio constante como el mostrado en SEQ ID No: 7.

16.- Una proteína de unión a antígeno de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15 en donde la proteína de unión a antígeno es un anticuerpo.

17.- Una proteína de unión a antígeno de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16 en donde la proteína de unión a antígeno es para administrarse con metotrexato, de preferencia en donde la proteína de unión a antígeno se administra para el tratamiento de artritis reumatoide.

18.- Una proteína de unión a antígeno de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 17 que comprende la secuencia de la cadena pesada como la que se muestra en SEQ ID No 5 opcionalmente con una secuencia de la cadena ligera como la que se muestra en SEQ ID No: 2.

19.- Un método para tratar a un paciente que tiene una enfermedad, el método comprende administrar una proteína de unión a antígeno de conformidad con cualquier reivindicación precedente.

20.- Un método para tratar a un paciente que tiene una enfermedad, el método comprende administrar una proteína de unión a antígeno de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 19 al paciente por vía subcutánea como una dosis individual de aproximadamente 35 hasta

aproximadamente 45 mg en un intervalo de cuatro a ocho semanas.

21.- Una proteína de unión a antígeno de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 20 para uso en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de artritis reumatoide, artritis idiopática juvenil poliarticular, artritis psoriática, espondilitis anquilosante, enfermedad de Crohn o psoriasis.

22.- El uso de una proteína de unión a antígeno de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 20 para uso enel tratamiento de artritis reumatoide, artritis idiopática juvenil poliarticular, artritis psoriática, espondilitis anquilosante, enfermedad de Crohn o psoriasis.

23.- Un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótido que codifica para la proteína de unión a antígeno de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 22.

24.- Una célula hospedera que comprende el ácido nucleico de conformidad con la reivindicación 23.

Box No. VIII(ii) DECLARATION: ENTITLEMENT TO APPLY FOR AND BE GRANTED A PATENT
The declaration must conform to the standardized wording provided for in Section 212; see Notes to Boxes Nos. VIII, VIII(I) to (v) (in general and the specific Notes to Box No. VIII(ii). If this Box is not used, this sheet should not be included in the request.

Declaration as to the applicant's entitlement, as at the international filing date, to apply for and be granted a patent (Rules 4.17(ii) and 51*bis*.1(a)(ii)), in a case where the declaration under Rule 4.17(iv) is not appropriate:

in relation to international application No. **PCT/EP2012/064129**

GLAXO GROUP LIMITED is entitled to apply for and be granted a patent by virtue of the following:

(i) transfer of entitlement from inventors **Jonathan Henry ELLIS, Michael J MOLLOY, Tejash SHAH, Ian M TOMLINSON and Ahmed YASIN,** to GlaxoSmithKline Services Unlimited by way of employment contract

(ii) an assignment from GlaxoSmithKline Services Unlimited to Glaxo Group Limited dated 19 Jul 2011

☐ This declaration is continued on the following sheet, "Continuation of Box No. VIII(ii)".

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

(21) No. de solicitud:	(51) Int Cl: **C07K 16/24**
(22) Fecha de solicitud: 21-01-13	(71) Solicitante(s): **GLAXO GROUP LIMITED**
(30) Prioridad (31) ***No. Prioridad*** 1112429.4 (32) ***Fecha*** 19-07-11 (33) ***País*** GB	(72) Inventor(es): ELLIS, Jonathan, Henry; MOLLOY, Michael, J; SHAH, Tejash; TOMLINSON, Ian, M y YASIN, Ahmed.
	(74) Apoderado: **ALICIA LLOREDA RICAURTE**
(85) Fecha límite inicio fase nacional: 19-02-14 (86) Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT Fecha de presentación de la solicitud: *19-07-12* No. de solicitud: ***PCT/EP2012/064129***	(87) Publicación internacional Fecha: ***24-01-13*** No. publicación: ***WO 2013/011076 A2***
(54) Titulo: **"PROTEÍNAS DE UNIÓN A ANTIGENO DE TNF-ALFA CON UNIÓN A FcRn INCREMENTADA"**	

Resumen - Reivindicación(es):

Resumen.-

La presente invención provee proteínas de unión a antígeno que se unen específicamente a TNF-alfa. Por ejemplo variantes novedosas de anticuerpos anti-TNF, tal como adalimumab las cuales muestran unión incrementada al receptor FcRn o tiempo de vida media incrementado en comparación con adalimumab. También se proveen composiciones que comprenden las proteínas de unión a antígeno y los usos de dichas composiciones en el tratamiento de trastornos y enfermedad.

Sector: Química farmacéutica. Una proteína de unión a antígeno que se une específicamente a TNF-alfa.

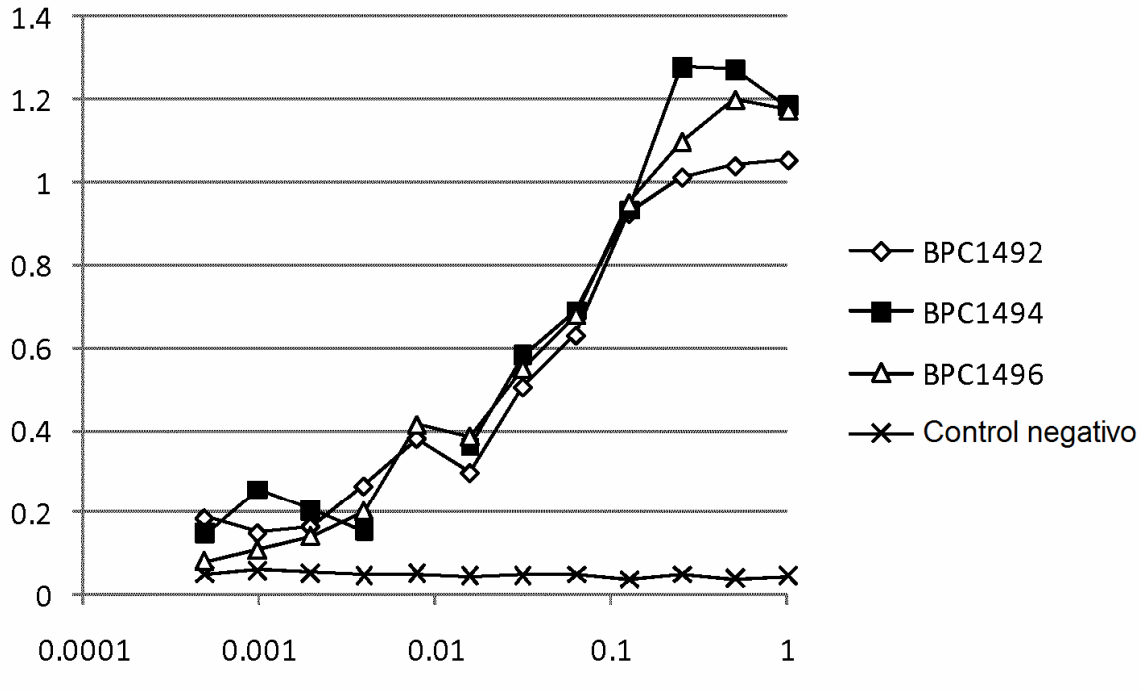

1.4
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
BPC1492
BPC1494
BPC1496
Control negativo

FIGURA 1

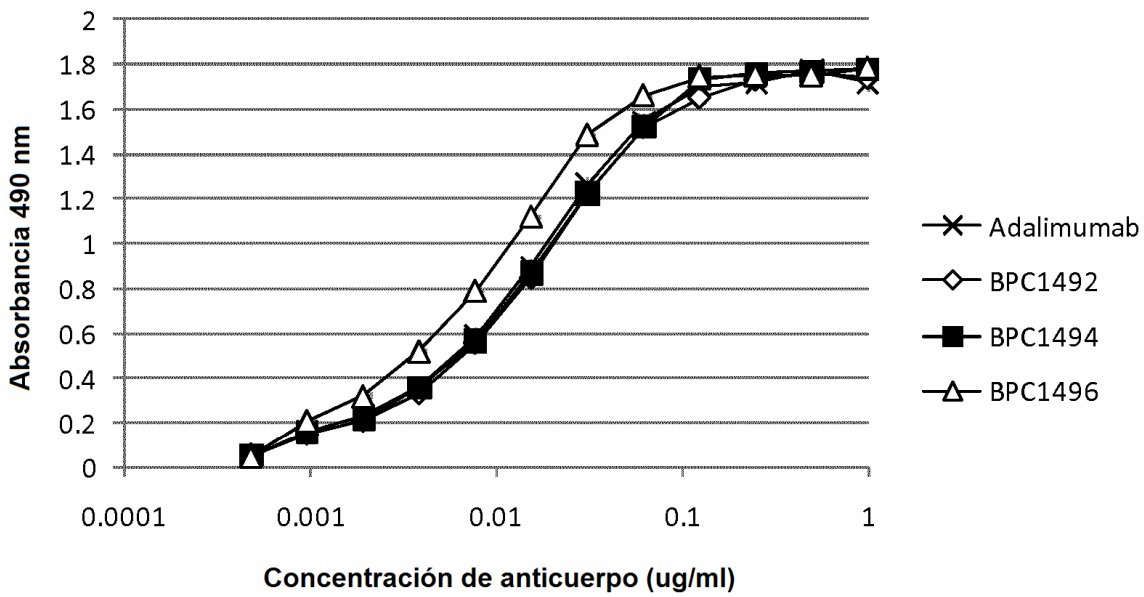

Absorbancia 490 nm
2
1.8
1.6
1.4
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
Concentración de anticuerpo (ug/ml)
Adalimumab
BPC1492
BPC1494
BPC1496

FIGURA 2

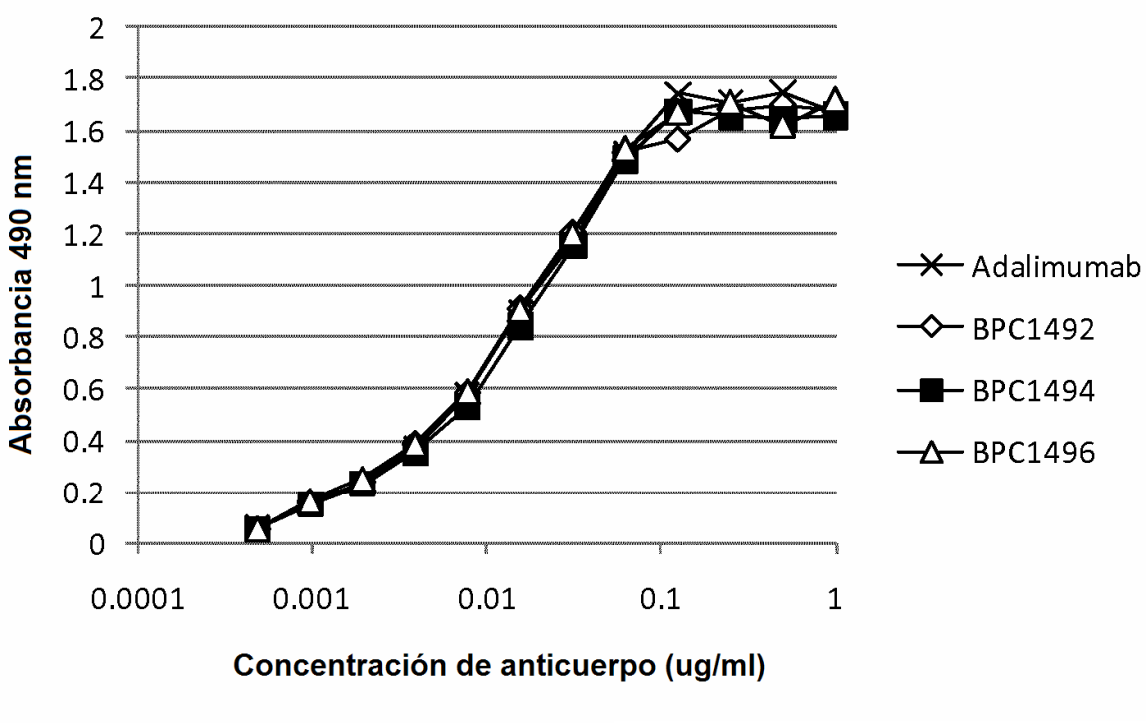

2
1.8
1.6
1.4
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
Absorbancia 490 nm
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
Concentración de anticuerpo (ug/ml)
Adalimumab
BPC1492
BPC1494
BPC1496

FIGURA 3

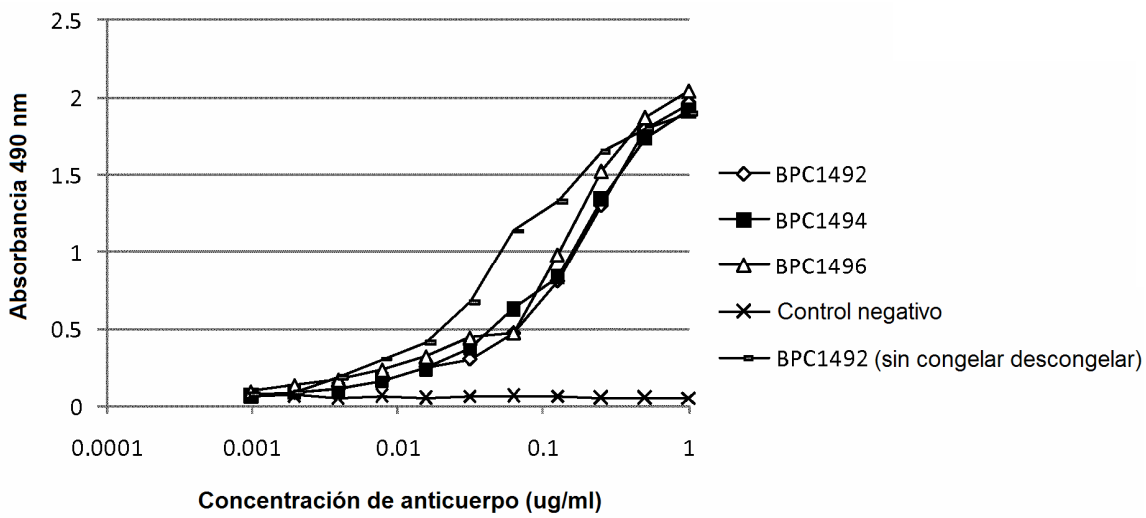

2.5
2
1.5
1
0.5
0
Absorbancia 490 nm
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
Concentración de anticuerpo (ug/ml)
BPC1492
BPC1494
BPC1496
Control negativo
BPC1492 (sin congelar descongelar)

FIGURA 4

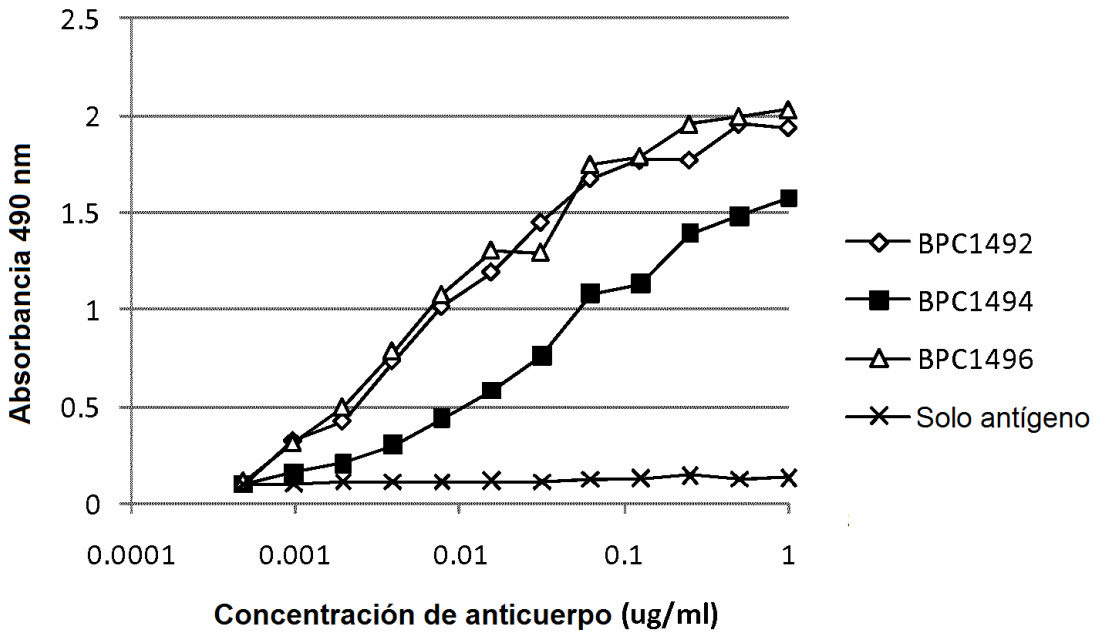


FIGURA 5A

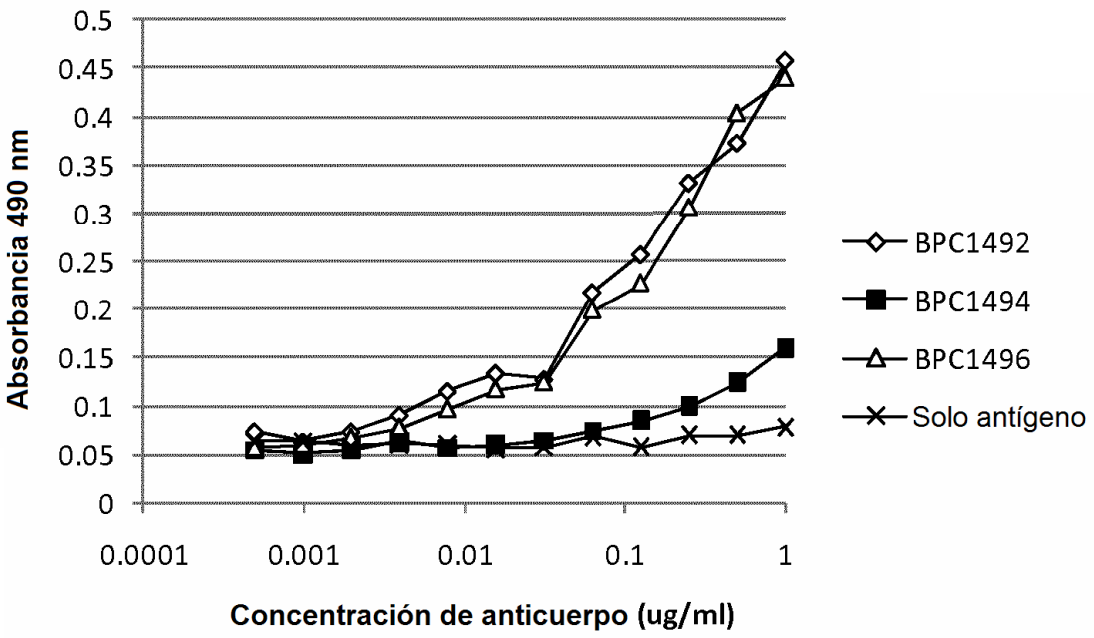


FIGURA 5B

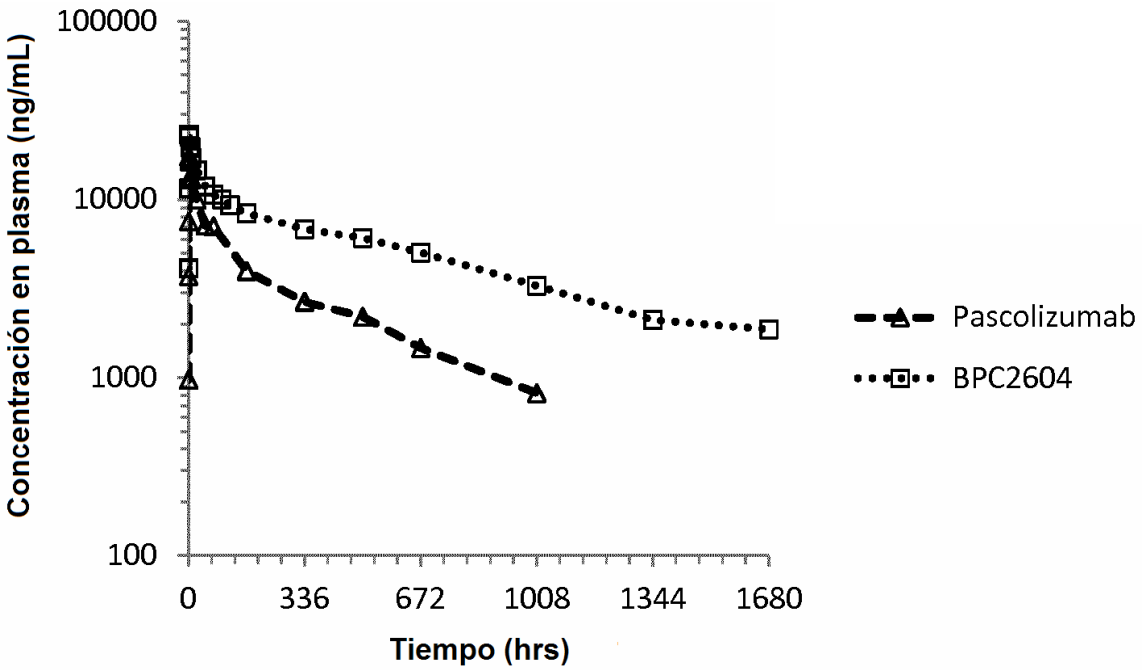

100000
10000
1000
100
Concentración en plasma (ng/mL)
0
336
672
1008
1344
1680
Tiempo (hrs)
Pascolizumab
BPC2604

FIGURA 6

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCT

NOTIFICATION OF THE RECORDING OF A CHANGE

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

To:

KERSHAW, Alison, Lesley
GlaxoSmithKline
Global Patents (CN925.1)
980 Great West Road
Brentford, Middlesex TW8 9GS
ROYAUME-UNI

Date of mailing *(day/month/year)* 15 May 2013 (15.05.2013)	
Applicant's or agent's file reference ALK/PB64705	**IMPORTANT NOTIFICATION**
International application No. PCT/EP2012/064129	International filing date *(day/month/year)* 19 July 2012 (19.07.2012)

1. The following indications appeared on record concerning:

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

Name and Address	State of Nationality	State of Residence
GLAXO GROUP LIMITED Glaxo Wellcome House Berkeley Avenue Greenford Middlesex UB6 0NN United Kingdom	GB	GB
	Telephone No.	
	Facsimile No.	
	E-mail address	

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

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

Name and Address	State of Nationality	State of Residence
GLAXO GROUP LIMITED 980 Great West Road Brentford Middlesex TW8 9GS United Kingdom	GB	GB
	Telephone No.	
	Facsimile No.	
	E-mail address ☐ Notifications by e-mail authorized	

3. Further observations, if necessary:

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

☒ the receiving Office
☐ the International Searching Authority
☐ the Authority(ies) specified for supplementary search
☐ the International Preliminary Examining Authority
☒ the designated Offices concerned
☐ the elected Offices concerned
☐ other:

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

Facsimile No. +41 22 338 82 70

Authorized officer
Blanc Veronique
e-mail pt06.pct@wipo.int
Telephone No. +41 22 338 74 06

PATENT COOPERATION TREATY

From the
INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINING AUTHORITY

To:

GLAXOSMITHKLINE
Global Patents (CN925.1)
980 Great West Road
Brentford, Middlesex TW8 9GS
ROYAUME UNI

PCT

NOTIFICATION OF TRANSMITTAL OF THE INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT ON PATENTABILITY

(PCT Rule 71.1)

Date of mailing *(day/month/year)*	16.10.2013
Applicant's or agent's file reference: PB64705/PCT	**IMPORTANT NOTIFICATION**

International application No.	International filing date *(day/month/year)*	Priority date *(day/month/year)*
PCT/EP2012/064129	19.07.2012	19.07.2011

Applicant
Glaxo Group Limited

1. The applicant is hereby notified that this International Preliminary Examining Authority transmits herewith the international preliminary report on patentability and its annexes, if any, established on the international application.

2. A copy of the report and its annexes, if any, is being transmitted to the International Bureau for communication to all the elected Offices.

3. Where required by any of the elected Offices, the International Bureau will prepare an English translation of the report (but not of any annexes) and will transmit such translation to those Offices.

4. **REMINDER**

   The applicant must enter the national phase before each elected Office by performing certain acts (filing translations and paying national fees) within 30 months from the priority date (or later in some Offices) (Article 39(1)) (see also the reminder sent by the International Bureau with Form PCT/IB/301).

   Where a translation of the international application must be furnished to an elected Office, that translation must contain a translation of any annexes to the international preliminary report on patentability. It is the applicant's responsibility to prepare and furnish such translation directly to each elected Office concerned.

   For further details on the applicable time limits and requirements of the elected Offices, see Volume II of the PCT Applicant's Guide.

   The applicant's attention is drawn to Article 33(5), which provides that the criteria of novelty, inventive step and industrial applicability described in Article 33(2) to (4) merely serve the purposes of international preliminary examination and that "any Contracting State may apply additional or different criteria for the purposes of deciding whether, in that State, the claimed inventions is patentable or not" (see also Article 27(5)). Such additional criteria may relate, for example, to exemptions from patentability, requirements for enabling disclosure, clarity and support for the claims.

Name and mailing address of the international preliminary examining authority:	Authorized Officer
European Patent Office D-80298 Munich Tel. +49 89 2399 - 0 Fax: +49 89 2399 - 4465	Faux, Katarina Tel. +49 89 2399-8062

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT ON PATENTABILITY

(Chapter II of the Patent Cooperation Treaty)

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference PB64705/PCT	**FOR FURTHER ACTION**	See Form PCT/IPEA/416
International application No. PCT/EP2012/064129	International filing date *(day/month/year)* 19.07.2012	Priority date *(day/month/year)* 19.07.2011
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC INV. C07K16/24		
Applicant Glaxo Group Limited		

1. This report is the international preliminary examination report, established by this International Preliminary Examining Authority under Article 35 and transmitted to the applicant according to Article 36.
2. This REPORT consists of a total of 9 sheets, including this cover sheet.
3. This report is also accompanied by ANNEXES, comprising:
   a. ☒ *sent to the applicant and to the International Bureau)* a total of 6 sheets, as follows:
      ☒ sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis of this report and/or sheets containing rectifications authorized by this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions).
      ☐ sheets which supersede earlier sheets, but which this Authority considers contain an amendment that goes beyond the disclosure in the international application as filed, as indicated in item 4 of Box No. I and the Supplemental Box.
   b. ☐ *(sent to the International Bureau only)* a total of (indicate type and number of electronic carrier(s)) , containing a sequence listing, in electronic form only, as indicated in the Supplemental Box Relating to Sequence Listing (see paragraph 3*bis* of Annex C of the Administrative Instructions).

4. This report contains indications relating to the following items:

☒	Box No. I	Basis of the report
☐	Box No. II	Priority
☐	Box No. III	Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
☐	Box No. IV	Lack of unity of invention
☒	Box No. V	Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
☐	Box No. VI	Certain documents cited
☐	Box No. VII	Certain defects in the international application
☒	Box No. VIII	Certain observations on the international application

Date of submission of the demand	Date of completion of this report
19.04.2013	16.10.2013
Name and mailing address of the international preliminary examining authority: European Patent Office D-80298 Munich Tel. +49 89 2399 - 0 Fax: +49 89 2399 - 4465	Authorized officer Ferreira, Roger Telephone No. +49 89 2399-2711

Box No. I Basis of the report

1. With regard to the **language**, this report is based on

   ☒ the international application in the language in which it was filed

   ☐ a translation of the international application into , which is the language of a translation furnished for the purposes of:
   - ☐ international search (under Rules 12.3(a) and 23.1(b))
   - ☐ publication of the international application (under Rule 12.4(a))
   - ☐ international preliminary examination (under Rules 55.2(a) and/or 55.3(a))

2. With regard to the **elements*** of the international application, this report is based on *(replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report)*:

   Description, Pages

   1-90 as originally filed

   Sequence listings, SEQ ID NO

   1-180 as originally filed

   Claims, Numbers

   1-24 filed with the demand for preliminary international examination

   Drawings, Sheets

   1/6-6/6 as originally filed

   ☒ a sequence listing - see Supplemental Box Relating to Sequence Listing.

3. ☐ The amendments have resulted in the cancellation of:
   - ☐ the description, pages
   - ☐ the claims, Nos.
   - ☐ the drawings, sheets/figs
   - ☐ the sequence listing *(specify)*:
   - ☐ any table(s) related to sequence listing *(specify)*:

4. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments annexed to this report and listed below had not been made, since either they are considered to go beyond the disclosure as filed, or they were not accompanied by a letter indicating the basis for the amendments in the application as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rules 70.2(c) and (c-bis)):
   - ☐ the description, pages
   - ☐ the claims, Nos.
   - ☐ the drawings, sheets/figs
   - ☐ the sequence listing *(specify)*:

5. ☐ This opinion has been established taking into account the **rectification of an obvious mistake** authorized by or notified to this Authority under Rule 91 (Rule 70.2 (e)).

6. ☐ Supplementary international search report(s) from Authority(ies) have been received and taken into account in drawing up this report (Rule 45bis.8(b) and (c)).

Box No. V Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Yes:	Claims	1-24
	No:	Claims	
Inventive step (IS)	Yes:	Claims	
	No:	Claims	1-24
Industrial applicability (IA)	Yes:	Claims	1-24
	No:	Claims	

2. Citations and explanations (Rule 70.7):

see separate sheet

Box No. VIII Certain observations on the international application

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

see separate sheet

Supplemental Box relating to Sequence Listing

Continuation of Box I, item 2:

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application and necessary to the claimed invention, this opinion has been established on the basis of a sequence listing filed or furnished:

   a. (means)

   ☐ on paper

   ☒ in electronic form

   b. (time)

   ☒ in the international application as filed

   ☐ together with the international application in electronic form

   ☐ subsequently to this Authority for the purposes of search and/or examination

   ☐ to this Authority as an amendment on

2. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

3. Additional comments:

* *If item 4 in Box No. I applies, the sequence listing, which forms part of the basis of the report, may be marked "superseded."*

Reference is made to the following documents:

D1 US 2009/163699 A1 (CHAMBERLAIN AARON KEITH [US] ET AL) 25 June 2009 (2009-06-25)

D6 DALL'ACQUA W F ET AL: "Properties of human IgG1s engineered for enhanced binding to the neonatal Fc receptor (FcRn)",JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, AMERICAN SOCIETY FOR BIOCHEMISTRY AND MOLECULAR BIOLOGY, US, vol. 281, no. 33, 21 June 2006 (2006-06-21), pages 23514-23524, XP002404904,ISSN: 0021-9258, DOI: 10.1074/JBC.M604292200

Subject-matter of the claims

The claims relate to an **antigen binding protein** (*e.g.* an **antibody**) which specifically binds to **TNF-alpha** comprising
(i) **CDRH1** (SEQ ID No. 27), **CDRH2** (SEQ ID No. 28), **CDRH3** (SEQ ID No. 29), **CDRL1** (SEQ ID No. 30), **CDRL2** (SEQ ID No. 31) and **CDRL3** (SEQ ID No 32) or a **CDR variant** thereof which contains **1, 2, 3 or 4 amino acid substitutions, insertions or deletions** as compared to CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 or CDRL3 and
(ii) a **neonatal Fc receptor** (**FcRn**) **binding portion** of a **human IgG1 constant domain** comprising **one of more amino acid substitutions** relative to the human IgG1 constant domain
wherein the one or more amino acid substitution is at **amino acid residues 252**, **254** and **256** numbered according to EU index of **Kabat** and the substitution at residue 252 is a substitution with tyr, phe, trp or thr; the substitution at residue 254 is a substitution with thr; and the substitution at residue 256 is a substitution with ser, arg, glu, asp or thr and
wherein the antigen binding protein has an **increased FcRn binding affinity** at pH 6 and/or **increased half-life** as compared to an IgG comprising the **light chain** (**VL**) sequence of SEQ ID No. 2 and the **heavy chain** (**VH**) sequence of SEQ ID No. 12.

Re Item I

1 **Basis of the report**

1.1 The amendments filed with the demand for preliminary international examination appear to fulfil the requirements of Article 34 PCT. Indeed, a basis for amended claims 1-24 could be identified in the application as originally filed at the following passages: original claims 1-4, 6-17, 23, 24, 26 and 29-34.

Re Item V

1 **Novelty, Article 33(3) PCT**

1.1 Present claims 1-24 appear to be novel in view of the cited prior art documents.

2 **Inventive step, Article 33(3) PCT**

2.1 The present application does not meet the criteria of Article 33(1) PCT, because the subject-matter of claims 1-24 does not involve an inventive step in the sense of Article 33(3) PCT.

2.2 **D1** discloses (see, *e.g.* abstract; paragraphs [0014]-[0021] and [0126]-[0132]; claims 1-19; figures 1-23; examples 1-7; SEQ ID Nos. 23 and 24) an anti-TNF-alpha antibody which comprises a VL sequence (of SEQ ID No. 23) and a VH sequence (of SEQ ID No. 24) which share 100% identity with the sequences as set forth, respectively, in SEQ ID Nos. 2 and 12 of the present application. This document further discloses the introduction of substitutions in the FcRn binding portion of the IgG1 constant domain of said antibody in order to increase FcRn binding affinity and/or increase half-life as compared to the parent antibody. The use of said antibody in therapeutic applications is also described in D1.

The antigen binding protein of claim 1 differs from that of D1 in that the one or more amino acid substitution is at amino acid residues 252, 254 and 256 numbered according to EU index of Kabat and the substitution at residue 252 is a substitution with tyr, phe, trp or thr; the substitution at residue 254 is a substitution with thr; and the substitution at residue 256 is a substitution with ser, arg, glu, asp or thr.

In absence of any apparent surprising technical effect associated to this difference over the antibodies of the prior art (*e.g.* of D1), the problem to be solved by the present application might be regarded as the provision of

alternative means for increasing the half-life and/or the FcRn binding affinity of the anti-TNF-alpha antibody comprising the VL and VH sequences of SEQ ID Nos. 2 and 12, respectively, in order to be used in therapeutic applications.

D1 further discloses the introduction of substitutions at positions 250, 252, 254, 256, 257, 259, 307, 308, 428 and 434, wherein the numbering is according to EU index of Kabat, and in particular of the substitutions 252Y, 254T and 256E, in the FcRn binding portion of the IgG1 constant domain of various antibodies (*e.g.* of an anti-VEGF antibody or of an anti-IgE antibody) in order to increase FcRn binding affinity and/or increase half-life as compared to the parent antibodies (see, *e.g.* paragraphs [0045]-[0047]; figures 6, 9, 12-15 and 21-23; examples 1-7).

Similarly, **D6** teaches (see, *e.g.* abstract; experimental procedures; results; figures 1-9; tables 1-3) that the triple mutation M252Y/S254T/T256E (also known as YTE) was introduced into the Fc portion of MEDI-524, a humanized anti-respiratory sincytial virus (RSV) monoclonal antibody. D6 reads "*Whereas these substitutions did not affect the ability of MEDI-524 to bind to its cognate antigen and inhibit RSV replication, they resulted in a 10-fold increase in its binding to both cynomolgus monkey and human FcRn at pH 6.0*". The authors of D6 have shown that "*MEDI-524-YTE consistently exhibited a nearly 4-fold increase in serum half-life in cynomolgus monkeys when compared with MEDI-524*". D6 further reads "*the YTE triple substitution provided a means to modulate the antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity (ADCC) activity of a humanized IgG1 directed against the human integrin $\alpha_v\beta_3$. Therefore, the YTE substitutions allow the simultaneous modulation of serum half-life, tissue distribution and activity of a given human IgG1*".

To the skilled person, therefore, starting from the anti-TNF-alpha antibody disclosed in D1, which antibody comprises substitutions in its FcRn binding portion of the IgG1 constant domain in order to increase FcRn binding affinity and/or increase half-life as compared to the parent antibody, aware of the disclosure of D1 and D6 in relation with the fact that the introduction of the 254Y/254T/256E (YTE) substitutions into the FcRn binding region of humanized/human IgG1 constant domain-containing antibodies increases their binding to FcRn, increases their serum half-life and provides a means to modulate their ADCC activity and confronted to the hereinbefore mentioned problem to the solved, it would be obvious to introduce these YTE substitutions into the anti-TNF-alpha antibody comprising the VL and VH sequences of SEQ ID Nos. 2 and 12, respectively, in order to increase its half-

life and/or FcRn binding and to be used in therapeutic applications, and he would, hence, arrive at an antigen binding protein corresponding to the subject-matter of claim 1.

Applicant's attention is also brought to the fact that the **selection** of particular substitutions to be introduced into the FcRn binding region of a human IgG1 constant region without any assigned function or apparent surprising technical effect **over** the substitutions disclosed in the prior art from a group of substitutions disclosed or obtainable from said prior art is **arbitrary** and thus not inventive.

As a consequence, claim 1 doe not appear to comply with the requirements of Article 33(3) PCT for lack of inventive step of its subject-matter.

2.3 The same reasoning as given hereinbefore under Re Item V.2.2 applies *mutatis mutandis* to the subject-matter of claims 2-24.
Therefore, the subject-matter of claims 2-24 is not considered to involve an inventive step.

2.4 It is further pointed out that it is unlikely that all the antibodies encompassed by the present claims have the required function (*i.e. "specifically binds to TNF-alpha"*) and thus solve the technical problem underlying the invention (Article 33(3) PCT). Indeed, since the sequences mentioned in the present claims allow for a less than 100% identity and in view of the importance of the role played by each single amino acid in the binding of an antibody to its target, especially at the level of its **6 CDRs**, claims directed to an antibody which is structurally characterised by less than the **full sequence** of the **6 CDRs** do not represent the solution to the technical problem underlying said claims and cannot therefore be considered to involve an inventive step.

3 Remarks concerning claims 7-22

3.1 The patentability can be dependent upon the formulation of the claims. The EPO, for example, does not recognize as patentable claims to the use of a compound in medical treatment, but may allow claims to a product, in particular substances or compositions for use in a first or further medical treatment.

3.2 Patentability, in particular novelty and inventive step, of claims 7-22 has been assessed on the basis of a purpose-limited product claim taking into account the alleged effects of the compound/composition.

Re Item VIII

1 **Sufficiency of disclosure, Support and Clarity, Articles 5 and 6 PCT**

1.1 Claims 1, 3-5, 7 and 11-14 do not meet the requirements of Article 6 PCT because the matter for which protection is sought is not clearly defined. The claims attempt to define the subject-matter in terms of the **result to be achieved**, which merely amounts to a statement of the underlying problem, without providing the technical features necessary for achieving this result (*e.g.* by use of structural/technical features).

The absence of technical/structural definitions of part of the subject-matter of claims 1, 3-5, 7 and 11-14 gives rise to a lack of disclosure, support and clarity due to the lack of **features** that are **crucial and essential** to carry out the invention over the entire scope claimed (Articles 5 and 6 PCT).

1.2 The term "***variant***", used in claim 1, is vague and unclear and leaves the reader in doubt as to the meaning of the technical features to which it refers, thereby rendering the definition of the subject-matter of said claim unclear, Article 6 PCT.

1.3 The relative and vague term "***comparable***", used in claims 3 and 7, has no well-recognized meaning and leaves the reader in doubt as to the meaning of the technical features to which it refers, thereby rendering the definition of the subject-matter of said claims unclear, Article 6 PCT.

1.4 Applicant's attention is brought to the fact that features **in parentheses**, as used in claim 1, are **optional** and are, therefore, not considered to limit the scope of the claim. Their presence in the claims only renders the claimed subject-matter unclear (Article 6 PCT).

1.5 Medical use claim 7 is considered unclear (Article 6 PCT) because the therapeutic application mentioned therein is not defined.

GlaxoSmithKline

Global Patents

By FAX: 00 49 89 2399 4465
With Confirmation to follow by AIRMAIL

European Patent Office
P B 5818 Patentlaan 2
NL – 2280 HV Rijswijk
Netherlands

EPO - DG 2
26. 04. 2013
43

GlaxoSmithKline Services Unlimited
980 Great West Road
Brentford
Middlesex
TW8 9GS
Tel. +44 (0)20 8047 5000
www.gsk.com

19th April 2013

Direct tel +44 (0)20 8047 2576
Direct fax +44 (0)20 8047 6894

Our Ref: ALK/PB64705/PCT

Dear Sirs,

Re: International Patent Application PCT/EP2012/064129 in the name of Glaxo Group Limited

Further to the International Search Report and first written opinion dated 25th January 2013, the applicant hereby confirms that it considers the EPO to be the International Preliminary Examination Authority. Accordingly, enclosed herewith please find the PCT Demand for International Preliminary Examination (Form PCT/IPEA/401) together with a fee sheet authorising deduction of the fee of EUR2015 (examination fee and handling fee) from deposit account number 28050015. You are hereby authorised to deduct any deficiency from the same account.

Please note that the applicant's address has recently changed, as set out in our letter dated 26th March 2013, enclosed.. Accordingly, the Demand is filed in the name of the applicant at its new place of business.

Requests

The applicant hereby submits an amended set of claims in both marked up and "clean copy" and requests that the application is further examined on the basis of this newly filed claim set. The claim amendments are made without prejudice, that is to say, the applicant retains the right to claim the excised subject matter in subsequent proceedings in this, or other patent applications.
It is requested that any consequential amendments to the description be deferred until the final form of the claims has been agreed.

Basis for Claim Amendments

Amendments have been made to the claims as filed, in particular the following amendments have been made.

gsk 0215c

Registered in England & Wales
No. 1047315
Registered office
980 Great West Road
Brentford, Middlesex. TW8 9GS

26-04-2013

Claim 1 has been limited by inserting the technical features of claim 15 into the claim. Claim 15 has subsequently been deleted.
Claim 2 takes basis from original claim 16 and as such claim 16 has subsequently been deleted.
Claims 2-4 (new claims 3-5) have been made dependant on claims 1 and 2.
Claim 5 has been deleted.
Claims 18 to 22, 25, 27, 28 to 31 and 35 to 44 have been deleted.
New claim 22 directed to a second medical use claim in line with EPC 2000 has been inserted.

Subsequent claim numbers and dependencies have been changed accordingly.

Patentability of the claims

Novelty

Regarding the first written opinion, the applicant wishes to file the following response with regard to novelty in so far as the original objections raised apply to new claims 1-24. All other objections for example, inventive step, will be dealt with in National phase.

The examiner stated that claims 1-35 as filed were anticipated by the disclosure of US2009/0163699 herein referred to as D1. The Patentee respectfully submits that D1 does not directly and unambiguously disclose the subject matter of the claims of the present application.

D1 is a US patent filed before the priority date of the current patent application and as such is citable for novelty. D1 relates to certain specific mutations in the Fc portion of antibodies which are intended to improve binding to FcRn and as such increase half life of antibodies. D1 discloses a number of possible mutations which are indicated to be optimal at improving FcRn binding, for example one such mutation is 428L/434S.

D1 does not however, disclose directly or unambiguously the mutations relating to positions 252, 254 and 256 nor does it refer to the specific amino acid residues which are listed in the claim, in combination with the anti-TNF antibody CDR sequences.

D1 discloses in Fig 4 (SEQ ID NO.15 and SEQ ID NO. 16) the variable regions of the antibody provided for by the current claim set. D1 then further discloses in Figure 5 the above mentioned variable regions with constant regions which have been mutated to improve FcRN binding however, these mutations are limited to 259I in combination with 308F or alternatively 434S in combination with 428L.

No disclosure is given of the mutations at positions 252, 254 or 256.

In fact the only disclosure of the particular mutations 252Y, 254T and 256E in D1 are found in Figure 6 but only in combination with the antibody variable domains from a particular VEGF antibody (Avastin). No disclosure of the other amino acids listed in the claim are disclosed in D1 at all.

The current claims are limited to a specific set of mutations improving half life when used on a specific antibody sequence. It is submitted therefore, that the present claim set is novel over the cited prior art.

As a precaution, in the event the IPEA still believes the claims to lack novelty, it is requested that the Examiner contacts the below signed representative at +44 (0) 20 047 2576 for an interview available as of right under Rule 66.6 PCT.

Yours faithfully,



Alison Kershaw
European Patent Attorney

Enc. Amended claims (marked-up)
Amended claims (clean)

PB64705

Claims

1. An antigen binding protein which specifically binds to TNF-alpha comprising:
(i) CDRH1 (SEQ ID NO: 27), CDRH2 (SEQ ID NO: 28), CDRH3 (SEQ ID No: 29), CDRL1 (SEQ ID NO: 30), CDRL2 (SEQ ID NO: 31), and CDRL3 (SEQ ID NO: 32); or a CDR variant thereof which contains 1, 2, 3 or 4 amino acid substitutions, insertions or deletions as compared to CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2, or CDRL3; and
(ii) a neonatal Fc receptor (FcRn) binding portion of a human IgG1 constant domain comprising one of more amino acid substitutions relative to the human IgG1 constant domain wherein the one or more amino acid substitution is at amino acid residues 252, 254 and 256 numbered according to EU index of Kabat and the substitution at residue 252 is a substitution with tyr, phe, trp or thr; the substitution at residue 254 is a substitution with thr; and the substitution at residue 256 is a substitution with ser, arg, glu, asp or thr and wherein the antigen binding protein has an increased FcRn binding affinity at pH 6 and/ or increased half-life as compared to an IgG comprising the light chain sequence of SEQ ID No. 2 and the heavy chain sequence of SEQ ID No.12.

2. An antigen binding protein as claimed in any preceding claim wherein the substitution at residue 252 is a substitution of met with tyr; the substitution at residue 254 is a substitution of ser with thr and the substitution at residue 256 is a substitution of thr with glu.

3. An antigen binding protein according to claim 1 or claim 2 wherein the antigen binding protein has an increased half life as compared to an IgG comprising the light chain sequence of SEQ ID No. 2 and the heavy chain sequence of SEQ ID No.12 and the antigen binding protein can be administered no more than once every four weeks to achieve comparable mean steady-state trough concentration as that achieved by the same dose of the IgG comprising light chain sequence of SEQ ID No. 2 and heavy chain sequence of SEQ ID No.12 administered once every two weeks.

4. An antigen binding protein according to claim 1 or claim 2
wherein the antigen binding protein has an affinity for FcRn of 4 fold greater than an anti-TNF antigen binding protein with the same CDR's without such modifications at pH 6 as assessed by ProteOn XPR36 protein interaction array system at 25°C, the array system having antigen binding proteins immobilised on the chip.

5. An antigen binding protein according to claim 1 or claim 2 wherein when the antigen binding protein is administered to patients at a single dose of 40 mg at a four to eight weekly interval, the mean steady-state trough antibody concentration in the patient population does not fall below 5 µg /ml, preferably below 6 µg /ml, between dosing intervals.

6. An antigen binding protein as claimed in any preceding claim wherein the human IgG1 constant domain has the sequence of SEQ ID No. 13 before amino acid substitutions are introduced.

7. An antigen binding protein as claimed in any one of claims 1 to 6 for use as a medicament for treating disease wherein the antigen binding protein can be administered to patients no more than once every four weeks to achieve comparable mean steady-state trough concentration as that achieved by the same dose of an IgG comprising the light chain sequence of SEQ ID No. 2 and the heavy chain sequence of SEQ ID No.12 administered once every two weeks.

8. An antigen binding protein as claimed in claim in any preceding claim for treatment of a disease wherein the antigen binding protein is administered to patients at a single dose between about 35 to about 45 mg at a four to eight weekly interval.

9. An antigen binding protein as claimed in claim 8 wherein the antigen binding protein is administered to patients subcutaneously as a single 40 mg dose no more than once every four weeks.

10. An antigen binding protein as claimed in claim 8 or claim 9 wherein the antigen binding protein is administered to patients subcutaneously as a single 40 mg dose no more than once every eight weeks.

11. An antigen binding protein as claimed in any one of claims 1 to 10 wherein the half-life of the antigen binding protein is increased 2 fold, 3 fold, 4 fold or 5 fold as compared to the native IgG.

12. An antigen binding protein as claimed in any preceding claim wherein administration of the antigen binding protein no more than once every four weeks in patients achieves the mean steady-state trough concentration in the patient population of between about 4 µg/ml to about 7 µg/ml.

13. An antigen binding protein as claimed in claim 12 wherein the mean steady-state trough concentration is between about 5 µg/ml to about 6 µg/ml.

14. An antigen binding protein as claimed in any one of claims 1 to 13 wherein the clearance of the antigen binding protein is about 2.ml/ hr to about 4ml/hr

15. An antigen binding protein as claimed in any preceding claim comprising a constant domain as shown in SEQ ID No: 7

16. An antigen binding protein as claimed in any one of claims 1 to 15 wherein the antigen binding protein is an antibody.

17. An antigen binding protein as claimed in any one of claims 1 to 16 wherein the antigen binding protein is to be administered with methotrexate, preferably wherein the antigen binding protein is administered for the treatment of rheumatoid arthritis.

18. An antigen binding protein as claimed in any one of claims 1 to 17 comprising the heavy chain sequence as shown in SEQ ID NO 5 optionally with a light chain sequence as shown in SEQ ID No: 2.

19. A method of treating a patient with a disease, the method comprising administering an antigen binding protein as claimed in any preceding claim.

20. A method of treating a patient with a disease, the method comprising administering an antigen binding protein as claimed in any one of claims 1 to 19 to the patient subcutaneously as a single of dose about 35 to about 45 mg at a four to eight weekly interval.

21. Use of an antigen binding protein as claimed in any one of claims 1 to 20 for use in the manufacture of a medicament for the treatment of rheumatoid arthritis, polyarticular juvenile idiopathic arthritis, psoriatic arthritis, ankylosing spondylitis, Crohn's disease or Psoriasis.

22 An antigen binding protein as claimed in any one of claims 1 to 20 for use in the treatment of rheumatoid arthritis, polyarticular juvenile idiopathic arthritis, psoriatic arthritis, ankylosing spondylitis, Crohn's disease or Psoriasis.

23. A nucleic acid comprising a nucleotide sequences encoding the antigen binding protein as claimed in any one of claims 1 to 22.

24. A host cell comprising the nucleic acid as claimed in claim 23.

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> ELLIS, Jonathan
TOMLINSON, Ian
SHAH, Tejash
MOLLOY, Michael
YASIN, Ahmed

<120> Proteínas de unión a antígeno de TNF-alfa con unión a FcRn incrementada

<130> PB64705

<150> GB1112429.4
<151> 2011-07-19

<160> 180

<170> FastSEQ para Windows Versión 4.0

<210> 1
<211> 642
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 1

gatatccaga tgacccagag ccccagcagc ctgagcgcct ctgtgggcga tagagtgacc 60

atcacctgcc gggccagcca gggcatcaga aactacctgg cctggtatca gcagaagcct 120

ggcaaggccc ctaagctgct gatctacgcc gccagcaccc tgcagagcgg cgtgcccagc 180

agattcagcg gcagcggctc cggcaccgac ttcaccctga ccatcagcag cctgcagccc 240

gaggacgtgg ccacctacta ctgccagcgg tacaacagag ccccttacac cttcggccag 300

ggcaccaagg tggagatcaa gcgtacggtg gccgccccca gcgtgttcat cttcccccca 360

agcgatgagc agctcaagag cggcaccgcc agcgtggtgt gtctgctgaa caacttctac 420

ccccgggagg ccaaagtgca gtggaaagtg gacaacgccc tgcagagcgg caacagccag 480

gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac tccacctaca gcctgagcag caccctgacc 540

ctgagcaagg ccgactacga gaagcacaaa gtgtacgcct gcgaagtgac ccaccagggc 600

ctgtccagcc ccgtgaccaa gagcttcaac cggggcgagt gc 642

<210> 2

<211> 214

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 2

```
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1               5                  10                  15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Tyr
            20                  25                  30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
        35                  40                  45
Tyr Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80
Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Arg Tyr Asn Arg Ala Pro Tyr
                85                  90                  95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
            100                 105                 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
        115                 120                 125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
    130                 135                 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145                 150                 155                 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
                165                 170                 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
            180                 185                 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
```

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 3

<211> 109

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 3

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Tyr

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Arg Tyr Asn Arg Ala Pro Tyr

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr

100 105

<210> 4

<211> 1353

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 4

gaggtgcagc tggtggagtc tggcggcgga ctggtgcagc ccggcagaag cctgagactg 60

agctgtgccg ccagcggctt caccttcgac gactacgcca tgcactgggt gaggcaggcc 120

cctggcaagg gcctggagtg ggtgtccgcc atcacctgga atagcggcca catcgactac 180

gccgacagcg tggagggcag attcaccatc agccgggaca acgccaagaa cagcctgtac 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac accgccgtgt actactgtgc caaggtgtcc 300

tacctgagca ccgccagcag cctggactac tggggccagg gcacactagt gaccgtgtcc 360

agcgccagca ccaagggccc cagcgtgttc cccctggccc ccagcagcaa gagcaccagc 420

ggcggcacag ccgccctggg ctgcctggtg aaggactact tccccgaacc ggtgaccgtg 480

tcctggaaca gcggagccct gaccagcggc gtgcacacct tccccgccgt gctgcagagc 540

agcggcctgt acagcctgag cagcgtggtg accgtgccca gcagcagcct gggcacccag 600

acctacatct gtaacgtgaa ccacaagccc agcaacacca aggtggacaa gaaggtggag 660

cccaagagct gtgacaagac ccacacctgc ccccctgcc ctgcccccga gctgctggga 720

ggccccagcg tgttcctgtt ccccccccaag cctaaggaca ccctgtacat caccagagag 780

cccgaggtga cctgtgtggt ggtggatgtg agccacgagg accctgaggt gaagttcaac 840

tggtacgtgg acggcgtgga ggtgcacaat gccaagacca agcccaggga ggagcagtac 900

aacagcacct accgggtggt gtccgtgctg accgtgctgc accaggattg gctgaacggc 960

aaggagtaca agtgtaaggt gtccaacaag gccctgcctg cccctatcga gaaaaccatc 1020

agcaaggcca agggccagcc cagagagccc caggtgtaca ccctgccccc tagcagagat 1080

gagctgacca agaaccaggt gtccctgacc tgcctggtga agggcttcta ccccagcgac 1140

atcgccgtgg agtgggagag caacggccag cccgagaaca actacaagac cacccccct 1200

gtgctggaca gcgatggcag cttcttcctg tacagcaagc tgaccgtgga caagagcaga 1260

tggcagcagg gcaacgtgtt cagctgctcc gtgatgcacg aggccctgca caatcactac 1320

acccagaaga gcctgagcct gtcccctggc aag 1353

<210> 5

<211> 451

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 5

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr

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

```
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
225                 230                 235                 240
Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Tyr
                245                 250                 255
Ile Thr Arg Glu Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
            260                 265                 270
Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
        275                 280                 285
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
    290                 295                 300
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
305                 310                 315                 320
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
                325                 330                 335
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
            340                 345                 350
Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
        355                 360                 365
Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
    370                 375                 380
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385                 390                 395                 400
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
                405                 410                 415
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
```

420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser

435 440 445

Pro Gly Lys

450

<210> 6

<211> 121

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 6

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr

20 25 30

Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ser Ala Ile Thr Trp Asn Ser Gly His Ile Asp Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Lys Val Ser Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Ser Leu Asp Tyr Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 7

<211> 330

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 7

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys

1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

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

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 8
<211> 1353
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia humanizada

<400> 8
gaggtgcagc tggtggagtc tggcggcgga ctggtgcagc ccggcagaag cctgagactg 60
agctgtgccg ccagcggctt caccttcgac gactacgcca tgcactgggt gaggcaggcc 120
cctggcaagg gcctggagtg ggtgtccgcc atcacctgga atagcggcca catcgactac 180
gccgacagcg tggagggcag attcaccatc agccgggaca acgccaagaa cagcctgtac 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac accgccgtgt actactgtgc caaggtgtcc 300

tacctgagca ccgccagcag cctggactac tggggccagg gcacactagt gaccgtgtcc 360

agcgccagca ccaagggccc cagcgtgttc cccctggccc ccagcagcaa gagcaccagc 420

ggcggcacag ccgccctggg ctgcctggtg aaggactact tccccgaacc ggtgaccgtg 480

tcctggaaca gcggagccct gaccagcggc gtgcacacct tccccgccgt gctgcagagc 540

agcggcctgt acagcctgag cagcgtggtg accgtgccca gcagcagcct gggcacccag 600

acctacatct gtaacgtgaa ccacaagccc agcaacacca aggtggacaa gaaggtggag 660

cccaagagct gtgacaagac ccacacctgc ccccccctgcc ctgcccccga gctgctggga 720

ggccccagcg tgttcctgtt ccccccccaag cctaaggaca ccctgatgat cagcagaacc 780

cccgaggtga cctgtgtggt ggtggatgtg agccacgagg accctgaggt gaagttcaac 840

tggtacgtgg acggcgtgga ggtgcacaat gccaagacca agcccaggga ggagcagtac 900

aacagcacct accgggtggt gtccgtgctg accgtgctgc accaggattg gctgaacggc 960

aaggagtaca agtgtaaggt gtccaacaag gccctgcctg cccctatcga gaaaaccatc 1020

agcaaggcca agggccagcc cagagagccc caggtgtaca ccctgccccc tagcagagat 1080

gagctgacca agaaccaggt gtccctgacc tgcctggtga agggcttcta ccccagcgac 1140

atcgccgtgg agtgggagag caacggccag cccgagaaca actacaagac cacccccccct 1200

gtgctggaca gcgatggcag cttcttcctg tacagcaagc tgaccgtgga caagagcaga 1260

tggcagcagg gcaacgtgtt cagctgctcc gtgctgcacg aggccctgca cagccactac 1320

acccagaaga gcctgagcct gtcccctggc aag 1353

<210> 9

<211> 451

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 9

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
20 25 30

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

Ser Ala Ile Thr Trp Asn Ser Gly His Ile Asp Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Val Ser Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Ser Leu Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala

```
                165                 170                 175
Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
            180                 185                 190
Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
        195                 200                 205
Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
    210                 215                 220
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
225                 230                 235                 240
Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
                245                 250                 255
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
            260                 265                 270
Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
        275                 280                 285
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
    290                 295                 300
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
305                 310                 315                 320
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
                325                 330                 335
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
            340                 345                 350
Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
        355                 360                 365
```

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
370 375 380
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385 390 395 400
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
405 410 415
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Leu
420 425 430
His Glu Ala Leu His Ser His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
435 440 445
Pro Gly Lys
450

<210> 10
<211> 330
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia humanizada

<400> 10
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

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

210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu

225 230 235 240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr

245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn

260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe

275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn

290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ser His Tyr Thr

305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325 330

<210> 11

<211> 1353

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 11

gaggtgcagc tggtggagtc tggcggcgga ctggtgcagc ccggcagaag cctgagactg 60

agctgtgccg ccagcggctt caccttcgac gactacgcca tgcactgggt gaggcaggcc 120

cctggcaagg gcctggagtg ggtgtccgcc atcacctgga atagcggcca catcgactac 180

gccgacagcg tggagggcag attcaccatc agccgggaca acgccaagaa cagcctgtac 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac accgccgtgt actactgtgc caaggtgtcc 300

tacctgagca ccgccagcag cctggactac tggggccagg gcacactagt gaccgtgtcc 360

agcgccagca ccaagggccc cagcgtgttc cccctggccc ccagcagcaa gagcaccagc 420

ggcggcacag ccgccctggg ctgcctggtg aaggactact tccccgaacc ggtgaccgtg 480

tcctggaaca gcggagccct gaccagcggc gtgcacacct tccccgccgt gctgcagagc 540

agcggcctgt acagcctgag cagcgtggtg accgtgccca gcagcagcct gggcacccag 600

acctacatct gtaacgtgaa ccacaagccc agcaacacca aggtggacaa gaaggtggag 660

cccaagagct gtgacaagac ccacacctgc ccccctgcc ctgcccccga gctgctggga 720

ggccccagcg tgttcctgtt ccccccaag cctaaggaca ccctgatgat cagcagaacc 780

cccgaggtga cctgtgtggt ggtggatgtg agccacgagg accctgaggt gaagttcaac 840

tggtacgtgg acggcgtgga ggtgcacaat gccaagacca agcccaggga ggagcagtac 900

aacagcacct accgggtggt gtccgtgctg accgtgctgc accaggattg gctgaacggc 960

aaggagtaca agtgtaaggt gtccaacaag gccctgcctg cccctatcga gaaaaccatc 1020

agcaaggcca agggccagcc cagagagccc caggtgtaca ccctgccccc tagcagagat 1080

gagctgacca agaaccaggt gtccctgacc tgcctggtga agggcttcta ccccagcgac 1140

atcgccgtgg agtgggagag caacggccag cccgagaaca actacaagac cacccccct 1200

gtgctggaca gcgatggcag cttcttcctg tacagcaagc tgaccgtgga caagagcaga 1260

tggcagcagg gcaacgtgtt cagctgctcc gtgatgcacg aggccctgca caatcactac 1320

acccagaaga gcctgagcct gtcccctggc aag 1353

<210> 12

<211> 451

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 12

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
20 25 30

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

Ser Ala Ile Thr Trp Asn Ser Gly His Ile Asp Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Val Ser Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Ser Leu Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125

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

325 330 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro

385 390 395 400

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

405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met

420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser

435 440 445

Pro Gly Lys

450

<210> 13

<211> 330

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 13

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

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
225 230 235 240
Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 14

<211> 1353

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 14

gaggtgcagc tggtggagtc tggcggcgga ctggtgcagc ccggcagaag cctgagactg 60

agctgtgccg ccagcggctt caccttcgac gactacgcca tgcactgggt gaggcaggcc 120

cctggcaagg gcctggagtg ggtgtccgcc atcacctgga atagcggcca catcgactac 180

gccgacagcg tggagggcag attcaccatc agccgggaca acgccaagaa cagcctgtac 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac accgccgtgt actactgtgc caaggtgtcc 300

tacctgagca ccgccagcag cctggactac tggggccagg gcacactagt gaccgtgtcc 360

agcgccagca ccaagggccc cagcgtgttc cccctggccc ccagcagcaa gagcaccagc 420

ggcggcacag ccgccctggg ctgcctggtg aaggactact tccccgaacc ggtgaccgtg 480

tcctggaaca gcggagccct gaccagcggc gtgcacacct tccccgccgt gctgcagagc 540

agcggcctgt acagcctgag cagcgtggtg accgtgccca gcagcagcct gggcacccag 600

acctacatct gtaacgtgaa ccacaagccc agcaacacca aggtggacaa gaaggtggag 660

cccaagagct gtgacaagac ccacacctgc ccccccctgcc ctgcccccga gctgctggga 720

ggccccagcg tgttcctgtt ccccccccaag cctaaggacc aactgatgat cagcagaacc 780

cccgaggtga cctgtgtggt ggtggatgtg agccacgagg accctgaggt gaagttcaac 840

tggtacgtgg acggcgtgga ggtgcacaat gccaagacca agcccaggga ggagcagtac 900

aacagcacct accgggtggt gtccgtgctg accgtgctgc accaggattg gctgaacggc 960

aaggagtaca agtgtaaggt gtccaacaag gccctgcctg cccctatcga gaaaaccatc 1020

agcaaggcca agggccagcc cagagagccc caggtgtaca ccctgccccc tagcagagat 1080

gagctgacca agaaccaggt gtccctgacc tgcctggtga agggcttcta ccccagcgac 1140

atcgccgtgg agtgggagag caacggccag cccgagaaca actacaagac cacccccct 1200

gtgctggaca gcgatggcag cttcttcctg tacagcaagc tgaccgtgga caagagcaga 1260

tggcagcagg gcaacgtgtt cagctgctcc gtgttgcacg aggccctgca caatcactac 1320

acccagaaga gcctgagcct gtcccctggc aag 1353

<210> 15

<211> 451

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 15

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
20 25 30

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

Ser Ala Ile Thr Trp Asn Ser Gly His Ile Asp Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Lys Val Ser Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Ser Leu Asp Tyr Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser

115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala

130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val

145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala

165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val

180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His

195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys

210 215 220

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly

225 230 235 240

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Gln Leu Met

245 250 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His

260 265 270

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val

275 280 285

```
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
    290                 295                 300
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
305                 310                 315                 320
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
                325                 330                 335
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
            340                 345                 350
Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
        355                 360                 365
Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
    370                 375                 380
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385                 390                 395                 400
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
                405                 410                 415
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Leu
            420                 425                 430
His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
        435                 440                 445
Pro Gly Lys
    450
```

<210> 16

<211> 330

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 16

```
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
 1               5                  10                  15
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
            20                  25                  30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
        35                  40                  45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80
Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95
Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110
Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125
Lys Pro Lys Asp Gln Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
```

130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp

145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu

165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu

180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn

195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly

210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu

225 230 235 240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr

245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn

260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe

275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn

290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr

305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325 330

<210> 17

<211> 1353

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 17

gaggtgcagc tggtggagtc tggcggcgga ctggtgcagc ccggcagaag cctgagactg 60

agctgtgccg ccagcggctt caccttcgac gactacgcca tgcactgggt gaggcaggcc 120

cctggcaagg gcctggagtg ggtgtccgcc atcacctgga atagcggcca catcgactac 180

gccgacagcg tggagggcag attcaccatc agccgggaca acgccaagaa cagcctgtac 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac accgccgtgt actactgtgc caaggtgtcc 300

tacctgagca ccgccagcag cctggactac tggggccagg gcacactagt gaccgtgtcc 360

agcgccagca ccaagggccc cagcgtgttc cccctggccc ccagcagcaa gagcaccagc 420

ggcggcacag ccgccctggg ctgcctggtg aaggactact tccccgaacc ggtgaccgtg 480

tcctggaaca gcggagccct gaccagcggc gtgcacacct tccccgccgt gctgcagagc 540

agcggcctgt acagcctgag cagcgtggtg accgtgccca gcagcagcct gggcacccag 600

acctacatct gtaacgtgaa ccacaagccc agcaacacca aggtggacaa gaaggtggag 660

cccaagagct gtgacaagac ccacacctgc ccccccctgcc ctgcccccga gctgctggga 720

ggccccagcg tgttcctgtt ccccccccaag cctaaggaca ccctgatgat cagcagaacc 780

cccgaggtga cctgtgtggt ggtggatgtg agccacgagg accctgaggt gaagttcaac 840

tggtacgtgg acggcgtgga ggtgcacaat gccaagacca agcccaggga ggagcagtac 900

aacagcacct accgggtggt gtccgtgctg accttcctgc accaggattg gctgaacggc 960

aaggagtaca agtgtaaggt gtccaacaag gccctgcctg cccctatcga gaaaaccatc 1020

agcaaggcca agggccagcc cagagagccc caggtgtaca ccctgccccc tagcagagat 1080

gagctgacca agaaccaggt gtccctgacc tgcctggtga agggcttcta ccccagcgac 1140

atcgccgtgg agtgggagag caacggccag cccgagaaca actacaagac cacccccccct 1200

gtgctggaca gcgatggcag cttcttcctg tacagcaagc tgaccgtgga caagagcaga 1260

tggcagcagg gcaacgtgtt cagctgctcc gtgatgcacg aggccctgca caatcactac 1320

acccagaaga gcctgagcct gtcccctggc aag 1353

<210> 18

<211> 451

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 18

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr

20 25 30

Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

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

245 250 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His

260 265 270

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val

275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr

290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Phe Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly

305 310 315 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile

325 330 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro

385 390 395 400

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

405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met

420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser

435 440 445

Pro Gly Lys

450

<210> 19

<211> 330

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 19

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80
Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

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

290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr

305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325 330

<210> 20

<211> 1353

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 20

gaggtgcagc tggtggagtc tggcggcgga ctggtgcagc ccggcagaag cctgagactg 60

agctgtgccg ccagcggctt caccttcgac gactacgcca tgcactgggt gaggcaggcc 120

cctggcaagg gcctggagtg ggtgtccgcc atcacctgga atagcggcca catcgactac 180

gccgacagcg tggagggcag attcaccatc agccgggaca acgccaagaa cagcctgtac 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac accgccgtgt actactgtgc caaggtgtcc 300

tacctgagca ccgccagcag cctggactac tggggccagg gcacactagt gaccgtgtcc 360

agcgccagca ccaagggccc cagcgtgttc cccctggccc ccagcagcaa gagcaccagc 420

ggcggcacag ccgccctggg ctgcctggtg aaggactact tccccgaacc ggtgaccgtg 480

tcctggaaca gcggagccct gaccagcggc gtgcacacct tccccgccgt gctgcagagc 540

agcggcctgt acagcctgag cagcgtggtg accgtgccca gcagcagcct gggcacccag 600

acctacatct gtaacgtgaa ccacaagccc agcaacacca aggtggacaa gaaggtggag 660

cccaagagct gtgacaagac ccacacctgc ccccccctgcc ctgcccccga gctgctggga 720

ggccccagcg tgttcctgtt ccccccccaag cctaaggaca ccctgatgat cagcagaacc 780

cccgagatca cctgtgtggt ggtggatgtg agccacgagg accctgaagt gaagttcaac 840

tggtacgtgg acggcgtgga ggtgcacaat gccaagacca agcccaggga ggagcagtac 900

aacagcacct accgggtggt gtccgtgctg accgtgctgc accaggattg gctgaacggc 960

aaggagtaca agtgtaaggt gtccaacaag gccctgcctg cccctatcga gaaaaccatc 1020

agcaaggcca agggccagcc cagagagccc caggtgtaca ccctgccccc tagcagagat 1080

gagctgacca agaaccaggt gtccctgacc tgcctggtga agggcttcta ccccagcgac 1140

atcgccgtgg agtgggagag caacggccag cccgagaaca actacaagac cacccccccct 1200

gtgctggaca gcgatggcag cttcttcctg tacagcaagc tgaccgtgga caagagcaga 1260

tggcagcagg gcaacgtgtt cagctgctcc gtgatgcacg aggccctgca caatcactac 1320

acccagaaga gcctgagcct gtcccctggc aag 1353

<210> 21

<211> 451

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 21

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg

```
 1               5                  10                  15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
            20                  25                  30
Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45
Ser Ala Ile Thr Trp Asn Ser Gly His Ile Asp Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60
Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65                  70                  75                  80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Lys Val Ser Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Ser Leu Asp Tyr Trp Gly
            100                 105                 110
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
        115                 120                 125
Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
    130                 135                 140
Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145                 150                 155                 160
Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
                165                 170                 175
Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
            180                 185                 190
Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
        195                 200                 205
```

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
210 215 220
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
225 230 235 240
Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
245 250 255
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Ile Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
260 265 270
Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
275 280 285
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
290 295 300
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
305 310 315 320
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
325 330 335
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
340 345 350
Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
355 360 365
Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
370 375 380
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385 390 395 400
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val

405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met

420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser

435 440 445

Pro Gly Lys

450

<210> 22

<211> 330

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 22

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys

1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr

65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys

100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro

115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Ile Thr Cys

130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp

145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu

165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu

180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn

195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly

210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu

225 230 235 240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr

245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 23

<211> 1353

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 23

gaggtgcagc tggtggagtc tggcggcgga ctggtgcagc ccggcagaag cctgagactg 60

agctgtgccg ccagcggctt caccttcgac gactacgcca tgcactgggt gaggcaggcc 120

cctggcaagg gcctggagtg ggtgtccgcc atcacctgga atagcggcca catcgactac 180

gccgacagcg tggagggcag attcaccatc agccgggaca acgccaagaa cagcctgtac 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac accgccgtgt actactgtgc caaggtgtcc 300

tacctgagca ccgccagcag cctggactac tggggccagg gcacactagt gaccgtgtcc 360

agcgccagca ccaagggccc cagcgtgttc cccctggccc ccagcagcaa gagcaccagc 420

ggcggcacag ccgccctggg ctgcctggtg aaggactact tccccgaacc ggtgaccgtg 480

tcctggaaca gcggagccct gaccagcggc gtgcacacct tccccgccgt gctgcagagc 540

agcggcctgt acagcctgag cagcgtggtg accgtgccca gcagcagcct gggcacccag 600

acctacatct gtaacgtgaa ccacaagccc agcaacacca aggtggacaa gaaggtggag 660

cccaagagct gtgacaagac ccacacctgc ccccccctgcc ctgcccccga gctgctggga 720

ggccccagcg tgttcctgtt ccccccccaag cctaaggaca ccctgatgat cagcagaacc 780

ctggaggtga cctgtgtggt ggtggatgtg agccacgagg accctgaggt gaagttcaac 840

tggtacgtgg acggcgtgga ggtgcacaat gccaagacca agcccaggga ggagcagtac 900

aacagcacct accgggtggt gtccgtgctg accgtgctgc accaggattg gctgaacggc 960

aaggagtaca agtgtaaggt gtccaacaag gccctgcctg cccctatcga gaaaaccatc 1020

agcaaggcca agggccagcc cagagagccc caggtgtaca ccctgccccc tagcagagat 1080

gagctgacca agaaccaggt gtccctgacc tgcctggtga agggcttcta ccccagcgac 1140

atcgccgtgg agtgggagag caacggccag cccgagaaca actacaagac cacccccccct 1200

gtgctggaca gcgatggcag cttcttcctg tacagcaagc tgaccgtgga caagagcaga 1260

tggcagcagg gcaacgtgtt cagctgctcc gtgatgcacg aggccctgca ctatcactac 1320

acccagaaga gcctgagcct gtcccctggc aag 1353

<210> 24

<211> 451

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 24

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
20 25 30

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

Ser Ala Ile Thr Trp Asn Ser Gly His Ile Asp Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Val Ser Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Ser Leu Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala

```
                165                 170                 175
Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
            180                 185                 190
Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
        195                 200                 205
Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
    210                 215                 220
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
225                 230                 235                 240
Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
                245                 250                 255
Ile Ser Arg Thr Leu Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
            260                 265                 270
Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
        275                 280                 285
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
    290                 295                 300
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
305                 310                 315                 320
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
                325                 330                 335
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
            340                 345                 350
Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
        355                 360                 365
```

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
370 375 380
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385 390 395 400
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
405 410 415
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
420 425 430
His Glu Ala Leu His Tyr His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
435 440 445
Pro Gly Lys
450

<210> 25
<211> 330
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia humanizada

<400> 25
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

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

210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu

225 230 235 240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr

245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn

260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe

275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn

290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Tyr His Tyr Thr

305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325 330

<210> 26

<211> 19

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 26

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
 1   5   10   15

Val His Ser

<210> 27

<211> 5

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 27

Asp Tyr Ala Met His
 1   5

<210> 28

<211> 17

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 28

Ala Ile Thr Trp Asn Ser Gly His Ile Asp Tyr Ala Asp Ser Val Glu
1 5 10 15

Gly

<210> 29

<211> 12

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 29

Val Ser Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Ser Leu Asp Tyr
1 5 10

<210> 30

<211> 11

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 30

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 31

<211> 7

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 31

Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser

1 5

<210> 32

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 32

Gln Arg Tyr Asn Arg Ala Pro Tyr Thr

1 5

<210> 33

<211> 5

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 33

Gln Tyr Ala Met His

1 5

<210> 34

<211> 5

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 34

His Tyr Ala Leu His

1 5

<210> 35

<211> 5

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 35

His Tyr Ala Met His

1 5

<210> 36

<211> 5

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 36

Gln His Ala Leu His

1 5

<210> 37

<211> 5

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 37

Gln His Ala Met His

1 5

<210> 38

<211> 5

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 38

Asp His Ala Leu His

1 5

<210> 39

<211> 214

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 39

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

```
 1               5                  10                  15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Asn
            20                  25                  30
Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Ala Leu Ile
        35                  40                  45
Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Tyr Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ile Tyr Pro Leu
                85                  90                  95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
            100                 105                 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
        115                 120                 125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
    130                 135                 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145                 150                 155                 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
                165                 170                 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
            180                 185                 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
        195                 200                 205
```

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 40

<211> 12

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 40

Val His Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Gln Leu His His

1 5 10

<210> 41

<211> 12

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 41

Val Gln Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Ser Leu Gln Ser

1 5 10

<210> 42

<211> 12

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 42

Val Lys Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Ser Leu His Tyr

1 5 10

<210> 43

<211> 12

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 43

Val Lys Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Asn Leu Glu Ser

1 5 10

<210> 44

<211> 12

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 44

Val His Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Ser Leu Asp Tyr

1 5 10

<210> 45

<211> 12

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 45

Val Ser Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Ser Leu Gln Ser
1 5 10

<210> 46

<211> 12

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 46

Val Arg Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Asn Leu Gln His
1 5 10

<210> 47

<211> 12

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 47

Val Gln Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Gln Leu His Ser

1 5 10

<210> 48

<211> 12

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 48

Val Arg Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Gln Leu Asp Tyr

1 5 10

<210> 49

<211> 12

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 49

Val Arg Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Ser Leu Asp Tyr

1 5 10

<210> 50

<211> 11

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 50

His Ala Ser Lys Lys Ile Arg Asn Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 51

<211> 11

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 51

His Ala Ser Arg Lys Leu Arg Asn Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 52

<211> 11

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 52

His Ala Ser Arg Arg Leu Arg Asn Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 53

<211> 11

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 53

His Ala Ser Lys Arg Ile Arg Asn Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 54

<211> 11

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 54

His Ala Ser Arg Lys Ile Arg Asn Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 55

<211> 11

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 55

His Ala Ser Arg Arg Ile Arg Asn Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 56

<211> 11

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 56

His Ala Ser Arg Glu Ile Arg Asn Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 57

<211> 11

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 57

His Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 58

<211> 11

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 58

His Ala Ser Gln Lys Ile Arg Asn Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 59

<211> 11

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 59

Arg Ala Ser Arg Gly Leu Arg Asn Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 60

<211> 11

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 60

His Ala Ser Gln Arg Ile Arg Asn Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 61

<211> 11

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 61

Arg Ala Ser Arg Arg Ile Arg Asn Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 62

<211> 7

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 62

Ala Ala Ser Ser Leu Leu Arg

1 5

<210> 63

<211> 7

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 63

Ala Ala Ser Ser Leu Leu Lys

1 5

<210> 64

<211> 7

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 64

Ala Ala Ser Ser Leu Leu Pro

1 5

<210> 65

<211> 7

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 65

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Pro

1 5

<210> 66

<211> 7

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 66

Ala Ala Ser Ser Leu Leu His

1 5

<210> 67

<211> 7

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 67

Ala Ala Ser Ser Phe Leu Pro

1 5

<210> 68

<211> 7

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 68

Ala Ala Ser Ser Leu Leu Gln

1 5

<210> 69

<211> 7

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 69

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Gln

1 5

<210> 70

<211> 7

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 70

Ala Ala Ser Thr Leu Leu Lys

1 5

<210> 71

<211> 7

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 71

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Asn

1 5

<210> 72

<211> 7

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 72

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Lys

1 5

<210> 73

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 73

Gln Arg Tyr Asp Arg Pro Pro Tyr Thr

1 5

<210> 74

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 74

Gln Arg Tyr Asp Lys Pro Pro Tyr Thr

1 5

<210> 75

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 75

Gln Arg Tyr Asn Arg Pro Pro Tyr Thr

1 5

<210> 76

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 76

Gln Arg Tyr Asn Lys Pro Pro Tyr Thr

1 5

<210> 77

<211> 363

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 77

gaggtgcagc tggtggagtc tggcggcgga ctggtgcagc ccggcagaag cctgagactg 60

agctgtgccg ccagcggctt caccttcgac cagtacgcca tgcactgggt gaggcaggcc 120

cctggcaagg gcctggagtg ggtgtccgcc atcacctgga atagcggcca catcgactac 180

gccgacagcg tggagggcag attcaccatc agccgggaca acgccaagaa cagcctgtac 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac accgccgtgt actactgtgc caaggtgtcc 300

tacctgagca ccgccagcag cctggactac tggggccagg gcacactagt gaccgtgtcc 360

agc 363

<210> 78

<211> 121

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 78

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Gln Tyr
20 25 30

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

Ser Ala Ile Thr Trp Asn Ser Gly His Ile Asp Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Val Ser Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Ser Leu Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 79

<211> 363

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 79

gaggtgcagc tggtggagtc tggcggcgga ctggtgcagc ccggcagaag cctgagactg 60

agctgtgccg ccagcggctt caccttcgac gaccacgccc tgcactgggt gaggcaggcc 120

cctggcaagg gcctggagtg ggtgtccgcc atcacctgga atagcggcca catcgactac 180

gccgacagcg tggagggcag attcaccatc agccgggaca acgccaagaa cagcctgtac 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac accgccgtgt actactgtgc caaggtgagg 300

tacctgagca ccgccagcag cctggactac tggggccagg gcacactagt gaccgtgtcc 360

agc 363

<210> 80

<211> 121

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 80

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp His
20 25 30

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

Ser Ala Ile Thr Trp Asn Ser Gly His Ile Asp Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Val Arg Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Ser Leu Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 81

<211> 363

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 81

gaggtgcagc tggtggagtc tggcggcgga ctggtgcagc ccggcagaag cctgagactg 60

agctgtgccg ccagcggctt caccttcgac cactacgccc tgcactgggt gaggcaggcc 120

cctggcaagg gcctggagtg ggtgtccgcc atcacctgga atagcggcca catcgactac 180

gccgacagcg tggagggcag attcaccatc agccgggaca acgccaagaa cagcctgtac 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac accgccgtgt actactgtgc caaggtgtcc 300

tacctgagca ccgccagcag cctggactac tggggccagg gcacactagt gaccgtgtcc 360

agc 363

<210> 82

<211> 121

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 82

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp His Tyr

20 25 30

Ala Leu His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ser Ala Ile Thr Trp Asn Ser Gly His Ile Asp Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Lys Val Ser Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Ser Leu Asp Tyr Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 83

<211> 363

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 83

gaggtgcagc tggtggagtc tggcggcgga ctggtgcagc ccggcagaag cctgagactg 60

agctgtgccg ccagcggctt caccttcgac gactacgcca tgcactgggt gaggcaggcc 120

cctggcaagg gcctggagtg ggtgtccgcc atcacctgga atagcggcca catcgactac 180

gccgacagcg tggagggcag attcaccatc agccgggaca acgccaagaa cagcctgtac 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac accgccgtgt actactgtgc caaggtgcac 300

tacctgagca ccgccagcca actgcaccac tggggccagg gcacactagt gaccgtgtcc 360

agc 363

<210> 84

<211> 121

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 84

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr

20 25 30

Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ser Ala Ile Thr Trp Asn Ser Gly His Ile Asp Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Lys Val His Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Gln Leu His His Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 85

<211> 363

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 85

gaggtgcagc tggtggagtc tggcggcgga ctggtgcagc ccggcagaag cctgagactg 60

agctgtgccg ccagcggctt caccttcgac cactacgcca tgcactgggt gaggcaggcc 120

cctggcaagg gcctggagtg ggtgtccgcc atcacctgga atagcggcca catcgactac 180

gccgacagcg tggagggcag attcaccatc agccgggaca acgccaagaa cagcctgtac 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac accgccgtgt actactgtgc caaggtgcag 300

tacctgagca ccgccagcag cctgcagagc tggggccagg gcacactagt gaccgtgtcc 360

agc 363

<210> 86

<211> 121

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 86

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp His Tyr
20 25 30

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

Ser Ala Ile Thr Trp Asn Ser Gly His Ile Asp Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Val Gln Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Ser Leu Gln Ser Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 87

<211> 363

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 87

gaggtgcagc tggtggagtc tggcggcgga ctggtgcagc ccggcagaag cctgagactg 60

agctgtgccg ccagcggctt caccttcgac cagtacgcca tgcactgggt gaggcaggcc 120

cctggcaagg gcctggagtg ggtgtccgcc atcacctgga atagcggcca catcgactac 180

gccgacagcg tggagggcag attcaccatc agccgggaca acgccaagaa cagcctgtac 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac accgccgtgt actactgtgc caaggtgaag 300

tacctgagca ccgccagcag cctgcactac tggggccagg gcacactagt gaccgtgtcc 360

agc 363

<210> 88

<211> 121

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 88

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Gln Tyr
20 25 30
Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Ala Ile Thr Trp Asn Ser Gly His Ile Asp Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Lys Val Lys Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Ser Leu His Tyr Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 89

<211> 363

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 89

gaggtgcagc tggtggagtc tggcggcgga ctggtgcagc ccggcagaag cctgagactg 60

agctgtgccg ccagcggctt caccttcgac cagcacgccc tgcactgggt gaggcaggcc 120

cctggcaagg gcctggagtg ggtgtccgcc atcacctgga atagcggcca catcgactac 180

gccgacagcg tggagggcag attcaccatc agccgggaca acgccaagaa cagcctgtac 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac accgccgtgt actactgtgc caaggtgcac 300

tacctgagca ccgccagcag cctggactac tggggccagg gcacactagt gaccgtgtcc 360

agc 363

<210> 90

<211> 121

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 90

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Gln His
20 25 30

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

Ser Ala Ile Thr Trp Asn Ser Gly His Ile Asp Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Val His Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Ser Leu Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 91

<211> 363

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 91

gaggtgcagc tggtggagtc tggcggcgga ctggtgcagc ccggcagaag cctgagactg 60

agctgtgccg ccagcggctt caccttcgac cagtacgcca tgcactgggt gaggcaggcc 120

cctggcaagg gcctggagtg ggtgtccgcc atcacctgga atagcggcca catcgactac 180

gccgacagcg tggagggcag attcaccatc agccgggaca acgccaagaa cagcctgtac 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac accgccgtgt actactgtgc caaggtgcac 300

tacctgagca ccgccagcca gctgcaccac tggggccagg gcacactagt gaccgtgtcc 360

agc 363

<210> 92

<211> 121

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 92

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Gln Tyr

20 25 30

Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ser Ala Ile Thr Trp Asn Ser Gly His Ile Asp Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Lys Val His Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Gln Leu His His Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 93
<211> 363
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia humanizada

<400> 93
gaggtgcagc tggtggagtc tggcggcgga ctggtgcagc ccggcagaag cctgagactg 60
agctgtgccg ccagcggctt caccttcgac cagcacgcca tgcactgggt gaggcaggcc 120
cctggcaagg gcctggagtg ggtgtccgcc atcacctgga atagcggcca catcgactac 180
gccgacagcg tggagggcag attcaccatc agccgggaca acgccaagaa cagcctgtac 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac accgccgtgt actactgtgc caaggtgtcc 300

tacctgagca ccgccagcag cctggactac tggggccagg gcacactagt gaccgtgtcc 360

agc 363

<210> 94

<211> 121

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 94

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Gln His
20 25 30

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

Ser Ala Ile Thr Trp Asn Ser Gly His Ile Asp Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Val Ser Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Ser Leu Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 95

<211> 363

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 95

gaggtgcagc tggtggagtc tggcggcgga ctggtgcagc ccggcagaag cctgagactg 60

agctgtgccg ccagcggctt caccttcgac cagtacgcca tgcactgggt gaggcaggcc 120

cctggcaagg gcctggagtg ggtgtccgcc atcacctgga atagcggcca catcgactac 180

gccgacagcg tggagggcag attcaccatc agccgggaca acgccaagaa cagcctgtac 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac accgccgtgt actactgtgc caaggtgaag 300

tacctgagca ccgccagcaa cctggagagc tggggccagg gcacactagt gaccgtgtcc 360

agc 363

<210> 96

<211> 121

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 96

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Gln Tyr
20 25 30

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

Ser Ala Ile Thr Trp Asn Ser Gly His Ile Asp Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Val Lys Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Asn Leu Glu Ser Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 97

<211> 327

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 97

gatatccaga tgacccagag ccccagcagc ctgagcgcct ctgtgggcga tagagtgacc 60

atcacctgcc acgccagcaa gaagatcaga aactacctgg cctggtatca gcagaagcct 120

ggcaaggccc ctaagctgct gatctacgcc gccagcagcc tgctgagggg cgtgcccagc 180

agattcagcg gcagcggctc cggcaccgac ttcaccctga ccatcagcag cctgcagccc 240

gaggacgtgg ccacctacta ctgccagcgg tacgacagac ccccttacac cttcggccag 300

ggcaccaagg tggagatcaa gcgtacg 327

<210> 98

<211> 109

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 98

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Ala Ser Lys Lys Ile Arg Asn Tyr
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Leu Arg Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Arg Tyr Asp Arg Pro Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105

<210> 99

<211> 327

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 99

gatatccaga tgacccagag ccccagcagc ctgagcgcct ctgtgggcga tagagtgacc 60

atcacctgcc acgccagcag gaagctgaga aactacctgg cctggtatca gcagaagcct 120

ggcaaggccc ctaagctgct gatctacgcc gccagcagcc tgctgaaggg cgtgcccagc 180

agattcagcg gcagcggctc cggcaccgac ttcaccctga ccatcagcag cctgcagccc 240

gaggacgtgg ccacctacta ctgccagcgg tacgacagac ccccttacac cttcggccag 300

ggcaccaagg tggagatcaa gcgtacg 327

<210> 100

<211> 109

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 100

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Ala Ser Arg Lys Leu Arg Asn Tyr

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Leu Lys Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Arg Tyr Asp Arg Pro Pro Tyr

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr

100 105

<210> 101

<211> 327

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 101

gatatccaga tgacccagag ccccagcagc ctgagcgcct ctgtgggcga tagagtgacc 60

atcacctgcc acgccagcag gaggctgaga aactacctgg cctggtatca gcagaagcct 120

ggcaaggccc ctaagctgct gatctacgcc gccagcagcc tgctgcccgg cgtgcccagc 180

agattcagcg gcagcggctc cggcaccgac ttcaccctga ccatcagcag cctgcagccc 240

gaggacgtgg ccacctacta ctgccagcgg tacgacagac ccccttacac cttcggccag 300

ggcaccaagg tggagatcaa gcgtacg 327

<210> 102

<211> 109

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 102

```
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1               5                  10                  15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Ala Ser Arg Arg Leu Arg Asn Tyr
            20                  25                  30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
        35                  40                  45
Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Leu Pro Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80
Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Arg Tyr Asp Arg Pro Pro Tyr
                85                  90                  95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
            100                 105
```

<210> 103

<211> 327

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 103

gatatccaga tgacccagag ccccagcagc ctgagcgcct ctgtgggcga tagagtgacc 60

atcacctgcc acgccagcag gaagctgaga aactacctgg cctggtatca gcagaagcct 120

ggcaaggccc ctaagctgct gatctacgcc gccagcagcc tgctgagggg cgtgcccagc 180

agattcagcg gcagcggctc cggcaccgac ttcaccctga ccatcagcag cctgcagccc 240

gaggacgtgg ccacctacta ctgccagcgg tacgacagac ccccttacac cttcggccag 300

ggcaccaagg tggagatcaa gcgtacg 327

<210> 104

<211> 109

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 104

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Ala Ser Arg Lys Leu Arg Asn Tyr
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Leu Arg Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Arg Tyr Asp Arg Pro Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105

<210> 105

<211> 327

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 105

gatatccaga tgacccagag ccccagcagc ctgagcgcct ctgtgggcga tagagtgacc 60

atcacctgcc acgccagcaa gaggatcaga aactacctgg cctggtatca gcagaagcct 120

ggcaaggccc ctaagctgct gatctacgcc gccagcagcc tgctgaaggg cgtgcccagc 180

agattcagcg gcagcggctc cggcaccgac ttcaccctga ccatcagcag cctgcagccc 240

gaggacgtgg ccacctacta ctgccagcgg tacgacaagc ccccttacac cttcggccag 300

ggcaccaagg tggagatcaa gcgtacg 327

<210> 106

<211> 109

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 106

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Ala Ser Lys Arg Ile Arg Asn Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Leu Lys Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Arg Tyr Asp Lys Pro Pro Tyr

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr

100 105

<210> 107

<211> 327

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 107

gatatccaga tgacccagag ccccagcagc ctgagcgcct ctgtgggcga tagagtgacc 60

atcacctgcc acgccagcag gaagctgaga aactacctgg cctggtatca gcagaagcct 120

ggcaaggccc ctaagctgct gatctacgcc gccagcagcc tgctgagggg cgtgcccagc 180

agattcagcg gcagcggctc cggcaccgac ttcaccctga ccatcagcag cctgcagccc 240

gaggacgtgg ccacctacta ctgccagcgg tacaacagac ccccttacac cttcggccag 300

ggcaccaagg tggagatcaa gcgtacg 327

<210> 108

<211> 109

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 108

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Ala Ser Arg Lys Leu Arg Asn Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Leu Arg Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Arg Tyr Asn Arg Pro Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105

<210> 109

<211> 327

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 109

gatatccaga tgacccagag ccccagcagc ctgagcgcct ctgtgggcga tagagtgacc 60

atcacctgcc acgccagcag gaagatcaga aactacctgg cctggtatca gcagaagcct 120

ggcaaggccc ctaagctgct gatctacgcc gccagcagcc tgcagcccgg cgtgcccagc 180

agattcagcg gcagcggctc cggcaccgac ttcaccctga ccatcagcag cctgcagccc 240

gaggacgtgg ccacctacta ctgccagcgg tacgacagac ccccttacac cttcggccag 300

ggcaccaagg tggagatcaa gcgtacg 327

<210> 110

<211> 109

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 110

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Ala Ser Arg Lys Ile Arg Asn Tyr

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Pro Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Arg Tyr Asp Arg Pro Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105

<210> 111
<211> 327
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia humanizada

<400> 111
gatatccaga tgacccagag ccccagcagc ctgagcgcct ctgtgggcga tagagtgacc 60
atcacctgcc acgccagcag gaggatcaga aactacctgg cctggtatca gcagaagcct 120
ggcaaggccc ctaagctgct gatctacgcc gccagcagcc tgctgcacgg cgtgcccagc 180
agattcagcg gcagcggctc cggcaccgac ttcaccctga ccatcagcag cctgcagccc 240

gaggacgtgg ccacctacta ctgccagcgg tacgacagac ccccttacac cttcggccag 300

ggcaccaagg tggagatcaa gcgtacg 327

<210> 112

<211> 109

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 112

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Ala Ser Arg Arg Ile Arg Asn Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Leu His Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Arg Tyr Asp Arg Pro Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr

100 105

<210> 113

<211> 327

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 113

gatatccaga tgacccagag ccccagcagc ctgagcgcct ctgtgggcga tagagtgacc 60

atcacctgcc acgccagcag gaggctgaga aactacctgg cctggtatca gcagaagcct 120

ggcaaggccc ctaagctgct gatctacgcc gccagcagcc tgcagcccgg cgtgcccagc 180

agattcagcg gcagcggctc cggcaccgac ttcaccctga ccatcagcag cctgcagccc 240

gaggacgtgg ccacctacta ctgccagcgg tacgacagac ccccttacac cttcggccag 300

ggcaccaagg tggagatcaa gcgtacg 327

<210> 114

<211> 109

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 114

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Ala Ser Arg Arg Leu Arg Asn Tyr
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Pro Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Arg Tyr Asp Arg Pro Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105

<210> 115

<211> 327

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 115

gatatccaga tgacccagag ccccagcagc ctgagcgcct ctgtgggcga tagagtgacc 60

atcacctgcc acgccagcag gaggctgaga aactacctgg cctggtatca gcagaagcct 120

ggcaaggccc ctaagctgct gatctacgcc gccagcagcc tgctgaaggg cgtgcccagc 180

agattcagcg gcagcggctc cggcaccgac ttcaccctga ccatcagcag cctgcagccc 240

gaggacgtgg ccacctacta ctgccagcgg tacaacaagc ccccttacac cttcggccag 300

ggcaccaagg tggagatcaa gcgtacg 327

<210> 116

<211> 109

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 116

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Ala Ser Arg Arg Leu Arg Asn Tyr

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Leu Lys Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Arg Tyr Asn Lys Pro Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105

<210> 117
<211> 327
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia humanizada

<400> 117
gatatccaga tgacccagag ccccagcagc ctgagcgcct ctgtgggcga tagagtgacc 60
atcacctgcc acgccagcag gaagatcaga aactacctgg cctggtatca gcagaagcct 120
ggcaaggccc ctaagctgct gatctacgcc gccagcagct tcctgcccgg cgtgcccagc 180
agattcagcg gcagcggctc cggcaccgac ttcaccctga ccatcagcag cctgcagccc 240
gaggacgtgg ccacctacta ctgccagcgg tacgacagac ccccttacac cttcggccag 300
ggcaccaagg tggagatcaa gcgtacg 327

<210> 118

<211> 109

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 118

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Ala Ser Arg Lys Ile Arg Asn Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Phe Leu Pro Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Arg Tyr Asp Arg Pro Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105

<210> 119

<211> 327

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 119

gatatccaga tgacccagag ccccagcagc ctgagcgcct ctgtgggcga tagagtgacc 60

atcacctgcc acgccagcaa gaagatcaga aactacctgg cctggtatca gcagaagcct 120

ggcaaggccc ctaagctgct gatctacgcc gccagcagcc tgcagcccgg cgtgcccagc 180

agattcagcg gcagcggctc cggcaccgac ttcaccctga ccatcagcag cctgcagccc 240

gaggacgtgg ccacctacta ctgccagcgg tacgacagac ccccttacac cttcggccag 300

ggcaccaagg tggagatcaa gcgtacg 327

<210> 120

<211> 109

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 120

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Ala Ser Lys Lys Ile Arg Asn Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Pro Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Arg Tyr Asp Arg Pro Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105

<210> 121

<211> 327

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 121

gatatccaga tgacccagag ccccagcagc ctgagcgcct ctgtgggcga tagagtgacc 60

atcacctgcc acgccagcag gaggatcaga aactacctgg cctggtatca gcagaagcct 120

ggcaaggccc ctaagctgct gatctacgcc gccagcagcc tgctgcaggg cgtgcccagc 180

agattcagcg gcagcggctc cggcaccgac ttcaccctga ccatcagcag cctgcagccc 240

gaggacgtgg ccacctacta ctgccagcgg tacgacagac ccccttacac cttcggccag 300

ggcaccaagg tggagatcaa gcgtacg 327

<210> 122

<211> 109

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 122

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Ala Ser Arg Arg Ile Arg Asn Tyr

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Leu Gln Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Arg Tyr Asp Arg Pro Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105

<210> 123
<211> 327
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia humanizada

<400> 123
gatatccaga tgacccagag ccccagcagc ctgagcgcct ctgtgggcga tagagtgacc 60
atcacctgcc acgccagcag gaagctgaga aactacctgg cctggtatca gcagaagcct 120
ggcaaggccc ctaagctgct gatctacgcc gccagcagcc tgcagcaggg cgtgcccagc 180
agattcagcg gcagcggctc cggcaccgac ttcaccctga ccatcagcag cctgcagccc 240
gaggacgtgg ccacctacta ctgccagcgg tacgacagac ccccttacac cttcggccag 300
ggcaccaagg tggagatcaa gcgtacg 327

<210> 124

<211> 109

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 124

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Ala Ser Arg Lys Leu Arg Asn Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Gln Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Arg Tyr Asp Arg Pro Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105

<210> 125

<211> 327

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 125

gatatccaga tgacccagag ccccagcagc ctgagcgcct ctgtgggcga tagagtgacc 60

atcacctgcc acgccagcag gaagctgaga aactacctgg cctggtatca gcagaagcct 120

ggcaaggccc ctaagctgct gatctacgcc gccagcagcc tgctgcccgg cgtgcccagc 180

agattcagcg gcagcggctc cggcaccgac ttcaccctga ccatcagcag cctgcagccc 240

gaggacgtgg ccacctacta ctgccagcgg tacgacagac ccccttacac cttcggccag 300

ggcaccaagg tggagatcaa gcgtacg 327

<210> 126

<211> 109

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 126

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Ala Ser Arg Lys Leu Arg Asn Tyr

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Leu Pro Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Arg Tyr Asp Arg Pro Pro Tyr

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr

100 105

<210> 127

<211> 327

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 127

gatatccaga tgacccagag ccccagcagc ctgagcgcct ctgtgggcga tagagtgacc 60

atcacctgcc acgccagcag ggagatcaga aactacctgg cctggtatca gcagaagcct 120

ggcaaggccc ctaagctgct gatctacgcc gccagcagcc tgctgcccgg cgtgcccagc 180

agattcagcg gcagcggctc cggcaccgac ttcaccctga ccatcagcag cctgcagccc 240

gaggacgtgg ccacctacta ctgccagcgg tacgacagac ccccttacac cttcggccag 300

ggcaccaagg tggagatcaa gcgtacg 327

<210> 128

<211> 109

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 128

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Ala Ser Arg Glu Ile Arg Asn Tyr

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Leu Pro Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Arg Tyr Asp Arg Pro Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105

<210> 129

<211> 327

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 129

gatatccaga tgacccagag ccccagcagc ctgagcgcct ctgtgggcga tagagtgacc 60

atcacctgcc acgccagcca gggcatcaga aactacctgg cctggtatca gcagaagcct 120

ggcaaggccc ctaagctgct gatctacgcc gccagcaccc tgctgaaggg cgtgcccagc 180

agattcagcg gcagcggctc cggcaccgac ttcaccctga ccatcagcag cctgcagccc 240

gaggacgtgg ccacctacta ctgccagcgg tacgacagac ccccttacac cttcggccag 300

ggcaccaagg tggagatcaa gcgtacg 327

<210> 130

<211> 109

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 130

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Tyr
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ala Ala Ser Thr Leu Leu Lys Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Arg Tyr Asp Arg Pro Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105

<210> 131

<211> 327

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 131

gatatccaga tgacccagag ccccagcagc ctgagcgcct ctgtgggcga tagagtgacc 60

atcacctgcc acgccagcca gaagatcaga aactacctgg cctggtatca gcagaagcct 120

ggcaaggccc ctaagctgct gatctacgcc gccagcagcc tgcagcaggg cgtgcccagc 180

agattcagcg gcagcggctc cggcaccgac ttcaccctga ccatcagcag cctgcagccc 240

gaggacgtgg ccacctacta ctgccagcgg tacgacagac ccccttacac cttcggccag 300

ggcaccaagg tggagatcaa gcgtacg 327

<210> 132

<211> 109

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 132

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Ala Ser Gln Lys Ile Arg Asn Tyr

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Gln Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Arg Tyr Asp Arg Pro Pro Tyr

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr

100 105

<210> 133

<211> 327

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 133

gatatccaga tgacccagag ccccagcagc ctgagcgcct ctgtgggcga tagagtgacc 60

atcacctgcc acgccagcag gaggctgaga aactacctgg cctggtatca gcagaagcct 120

ggcaaggccc ctaagctgct gatctacgcc gccagcagcc tgctgcacgg cgtgcccagc 180

agattcagcg gcagcggctc cggcaccgac ttcaccctga ccatcagcag cctgcagccc 240

gaggacgtgg ccacctacta ctgccagcgg tacgacagac ccccttacac cttcggccag 300

ggcaccaagg tggagatcaa gcgtacg 327

<210> 134

<211> 109

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 134

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Ala Ser Arg Arg Leu Arg Asn Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Leu His Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Arg Tyr Asp Arg Pro Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr

100 105

<210> 135

<211> 327

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 135

gatatccaga tgacccagag ccccagcagc ctgagcgcct ctgtgggcga tagagtgacc 60

atcacctgcc acgccagcag gaggctgaga aactacctgg cctggtatca gcagaagcct 120

ggcaaggccc ctaagctgct gatctacgcc gccagcagcc tgctgaaggg cgtgcccagc 180

agattcagcg gcagcggctc cggcaccgac ttcaccctga ccatcagcag cctgcagccc 240

gaggacgtgg ccacctacta ctgccagcgg tacgacagac ccccttacac cttcggccag 300

ggcaccaagg tggagatcaa gcgtacg 327

<210> 136

<211> 109

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 136

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Ala Ser Arg Arg Leu Arg Asn Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Leu Lys Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Arg Tyr Asp Arg Pro Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105

<210> 137

<211> 327

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 137

gatatccaga tgacccagag ccccagcagc ctgagcgcct ctgtgggcga tagagtgacc 60

atcacctgcc acgccagcaa gaggatcaga aactacctgg cctggtatca gcagaagcct 120

ggcaaggccc ctaagctgct gatctacgcc gccagcagcc tgctgagggg cgtgcccagc 180

agattcagcg gcagcggctc cggcaccgac ttcaccctga ccatcagcag cctgcagccc 240

gaggacgtgg ccacctacta ctgccagcgg tacaacaagc ccccttacac cttcggccag 300

ggcaccaagg tggagatcaa gcgtacg 327

<210> 138

<211> 109

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 138

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Ala Ser Lys Arg Ile Arg Asn Tyr

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Leu Arg Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Arg Tyr Asn Lys Pro Pro Tyr

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr

100 105

<210> 139

<211> 327

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 139

gatatccaga tgacccagag ccccagcagc ctgagcgcct ctgtgggcga tagagtgacc 60

atcacctgcc acgccagcag gaagatcaga aactacctgg cctggtatca gcagaagcct 120

ggcaaggccc ctaagctgct gatctacgcc gccagcagcc tgctgagggg cgtgcccagc 180

agattcagcg gcagcggctc cggcaccgac ttcaccctga ccatcagcag cctgcagccc 240

gaggacgtgg ccacctacta ctgccagcgg tacgacaagc ccccttacac cttcggccag 300

ggcaccaagg tggagatcaa gcgtacg 327

<210> 140

<211> 109

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 140

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Ala Ser Arg Lys Ile Arg Asn Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Leu Arg Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Arg Tyr Asp Lys Pro Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105

<210> 141

<211> 327

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 141

gatatccaga tgacccagag ccccagcagc ctgagcgcct ctgtgggcga tagagtgacc 60

atcacctgcc acgccagcaa gaggatcaga aactacctgg cctggtatca gcagaagcct 120

ggcaaggccc ctaagctgct gatctacgcc gccagcagcc tgctgaaggg cgtgcccagc 180

agattcagcg gcagcggctc cggcaccgac ttcaccctga ccatcagcag cctgcagccc 240

gaggacgtgg ccacctacta ctgccagcgg tacaacaagc ccccttacac cttcggccag 300

ggcaccaagg tggagatcaa gcgtacg 327

<210> 142

<211> 109

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 142

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Ala Ser Lys Arg Ile Arg Asn Tyr
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Leu Lys Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Arg Tyr Asn Lys Pro Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105

<210> 143

<211> 327

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 143

gatatccaga tgacccagag ccccagcagc ctgagcgcct ctgtgggcga tagagtgacc 60

atcacctgcc acgccagcag gaagatcaga aactacctgg cctggtatca gcagaagcct 120

ggcaaggccc ctaagctgct gatctacgcc gccagcagcc tgctgcccgg cgtgcccagc 180

agattcagcg gcagcggctc cggcaccgac ttcaccctga ccatcagcag cctgcagccc 240

gaggacgtgg ccacctacta ctgccagcgg tacgacagac ccccttacac cttcggccag 300

ggcaccaagg tggagatcaa gcgtacg 327

<210> 144

<211> 109

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 144

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Ala Ser Arg Lys Ile Arg Asn Tyr

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Leu Pro Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Arg Tyr Asp Arg Pro Pro Tyr

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr

100 105

<210> 145

<211> 451

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 145

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Gln Tyr

20 25 30

Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ser Ala Ile Thr Trp Asn Ser Gly His Ile Asp Tyr Ala Asp Ser Val

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

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

450

<210> 146

<211> 451

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 146

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp His
20 25 30

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

Ser Ala Ile Thr Trp Asn Ser Gly His Ile Asp Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Val Arg Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Ser Leu Asp Tyr Trp Gly

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

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
305 310 315 320
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
325 330 335
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
340 345 350
Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
355 360 365
Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
370 375 380
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385 390 395 400
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
405 410 415
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
420 425 430
His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
435 440 445
Pro Gly Lys
450

<210> 147
<211> 642
<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 147

gatatccaga tgacccagag ccccagcagc ctgagcgcct ctgtgggcga tagagtgacc 60

atcacctgcc acgccagcag gaagatcaga aactacctgg cctggtatca gcagaagcct 120

ggcaaggccc ctaagctgct gatctacgcc gccagcagcc tgctgagggg cgtgcccagc 180

agattcagcg gcagcggctc cggcaccgac ttcaccctga ccatcagcag cctgcagccc 240

gaggacgtgg ccacctacta ctgccagcgg tacgacaagc ccccttacac cttcggccag 300

ggcaccaagg tggagatcaa gcgtacggtg gccgccccca gcgtgttcat cttcccccca 360

agcgatgagc agctgaagag cggcaccgcc agcgtggtgt gtctgctgaa caacttctac 420

ccccgggagg ccaaggtgca gtggaaggtg gacaatgccc tgcagagcgg caacagccag 480

gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac tccacctaca gcctgagcag caccctgacc 540

ctgagcaagg ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gtgaggtgac ccaccagggc 600

ctgtccagcc ccgtgaccaa gagcttcaac cggggcgagt gc 642

<210> 148

<211> 214

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 148

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

180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 149

<211> 642

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 149

gatatccaga tgacccagag ccccagcagc ctgagcgcct ctgtgggcga tagagtgacc 60

atcacctgcc acgccagcaa gaggatcaga aactacctgg cctggtatca gcagaagcct 120

ggcaaggccc ctaagctgct gatctacgcc gccagcagcc tgctgaaggg cgtgcccagc 180

agattcagcg gcagcggctc cggcaccgac ttcaccctga ccatcagcag cctgcagccc 240

gaggacgtgg ccacctacta ctgccagcgg tacaacaagc ccccttacac cttcggccag 300

ggcaccaagg tggagatcaa gcgtacggtg gccgccccca gcgtgttcat cttcccccccc 360

agcgatgagc agctgaagag cggcaccgcc agcgtggtgt gtctgctgaa caacttctac 420

ccccgggagg ccaaggtgca gtggaaggtg gacaatgccc tgcagagcgg caacagccag 480

gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac tccacctaca gcctgagcag caccctgacc 540

ctgagcaagg ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gtgaggtgac ccaccagggc 600

ctgtccagcc ccgtgaccaa gagcttcaac cggggcgagt gc 642

<210> 150

<211> 214

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 150

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Ala Ser Lys Arg Ile Arg Asn Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Leu Lys Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Arg Tyr Asn Lys Pro Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln

145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser

165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr

180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 151

<211> 642

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 151

gatatccaga tgacccagag ccccagcagc ctgagcgcct ctgtgggcga tagagtgacc 60

atcacctgcc acgccagcag gaagatcaga aactacctgg cctggtatca gcagaagcct 120

ggcaaggccc ctaagctgct gatctacgcc gccagcagcc tgctgcccgg cgtgcccagc 180

agattcagcg gcagcggctc cggcaccgac ttcaccctga ccatcagcag cctgcagccc 240

gaggacgtgg ccacctacta ctgccagcgg tacgacagac ccccttacac cttcggccag 300

ggcaccaagg tggagatcaa gcgtacggtg gccgccccca gcgtgttcat cttcccccca 360

agcgatgagc agctgaagag cggcaccgcc agcgtggtgt gtctgctgaa caacttctac 420

ccccgggagg ccaaggtgca gtggaaggtg gacaatgccc tgcagagcgg caacagccag 480

gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac tccacctaca gcctgagcag caccctgacc 540

ctgagcaagg ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gtgaggtgac ccaccagggc 600

ctgtccagcc ccgtgaccaa gagcttcaac cggggcgagt gc 642

<210> 152

<211> 214

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 152

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Ala Ser Arg Lys Ile Arg Asn Tyr

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

<210> 153

<211> 1353

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 153

gaggtgcagc tggtggagtc tggcggcgga ctggtgcagc ccggcagaag cctgagactg 60

agctgtgccg ccagcggctt caccttcgac cagtacgcca tgcactgggt gaggcaggcc 120

cctggcaagg gcctggagtg ggtgtccgcc atcacctgga atagcggcca catcgactac 180

gccgacagcg tggagggcag attcaccatc agccgggaca acgccaagaa cagcctgtac 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac accgccgtgt actactgtgc caaggtgtcc 300

tacctgagca ccgccagcag cctggactac tggggccagg gcacactagt gaccgtgtcc 360

agcgccagca ccaagggccc cagcgtgttc cccctggccc ccagcagcaa gagcaccagc 420

ggcggcacag ccgccctggg ctgcctggtg aaggactact tccccgaacc ggtgaccgtg 480

tcctggaaca gcggagccct gaccagcggc gtgcacacct tccccgccgt gctgcagagc 540

agcggcctgt acagcctgag cagcgtggtg accgtgccca gcagcagcct gggcacccag 600

acctacatct gtaacgtgaa ccacaagccc agcaacacca aggtggacaa gaaggtggag 660

cccaagagct gtgacaagac ccacacctgc ccccccctgcc ctgcccccga gctgctggga 720

ggccccagcg tgttcctgtt ccccccccaag cctaaggaca ccctgatgat cagcagaacc 780

cccgaggtga cctgtgtggt ggtggatgtg agccacgagg accctgaggt gaagttcaac 840

tggtacgtgg acggcgtgga ggtgcacaat gccaagacca agcccaggga ggagcagtac 900

aacagcacct accgggtggt gtccgtgctg accgtgctgc accaggattg gctgaacggc 960

aaggagtaca agtgtaaggt gtccaacaag gccctgcctg cccctatcga gaaaaccatc 1020

agcaaggcca agggccagcc cagagagccc caggtgtaca ccctgccccc tagcagagat 1080

gagctgacca agaaccaggt gtccctgacc tgcctggtga agggcttcta ccccagcgac 1140

atcgccgtgg agtgggagag caacggccag cccgagaaca actacaagac cacccccccct 1200

gtgctggaca gcgatggcag cttcttcctg tacagcaagc tgaccgtgga caagagcaga 1260

tggcagcagg gcaacgtgtt cagctgctcc gtgatgcacg aggccctgca caatcactac 1320

acccagaaga gcctgagcct gtcccctggc aag 1353

<210> 154

<211> 451

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 154

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Gln Tyr

20 25 30

Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

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

245 250 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His

260 265 270

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val

275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr

290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly

305 310 315 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile

325 330 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro

385 390 395 400

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

405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met

420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser

435 440 445

Pro Gly Lys

450

<210> 155

<211> 1353

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 155

gaggtgcagc tggtggagtc tggcggcgga ctggtgcagc ccggcagaag cctgagactg 60

agctgtgccg ccagcggctt caccttcgac gaccacgccc tgcactgggt gaggcaggcc 120

cctggcaagg gcctggagtg ggtgtccgcc atcacctgga atagcggcca catcgactac 180

gccgacagcg tggagggcag attcaccatc agccgggaca acgccaagaa cagcctgtac 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac accgccgtgt actactgtgc caaggtgagg 300

tacctgagca ccgccagcag cctggactac tggggccagg gcacactagt gaccgtgtcc 360

agcgccagca ccaagggccc cagcgtgttc cccctggccc ccagcagcaa gagcaccagc 420

ggcggcacag ccgccctggg ctgcctggtg aaggactact tccccgaacc ggtgaccgtg 480

tcctggaaca gcggagccct gaccagcggc gtgcacacct tccccgccgt gctgcagagc 540

agcggcctgt acagcctgag cagcgtggtg accgtgccca gcagcagcct gggcacccag 600

acctacatct gtaacgtgaa ccacaagccc agcaacacca aggtggacaa gaaggtggag 660

cccaagagct gtgacaagac ccacacctgc ccccctgcc ctgcccccga gctgctggga 720

ggccccagcg tgttcctgtt ccccccccaag cctaaggaca ccctgatgat cagcagaacc 780

cccgaggtga cctgtgtggt ggtggatgtg agccacgagg accctgaggt gaagttcaac 840

tggtacgtgg acggcgtgga ggtgcacaat gccaagacca agcccaggga ggagcagtac 900

aacagcacct accgggtggt gtccgtgctg accgtgctgc accaggattg gctgaacggc 960

aaggagtaca agtgtaaggt gtccaacaag gccctgcctg cccctatcga gaaaaccatc 1020

agcaaggcca agggccagcc cagagagccc caggtgtaca ccctgccccc tagcagagat 1080

gagctgacca agaaccaggt gtccctgacc tgcctggtga agggcttcta ccccagcgac 1140

atcgccgtgg agtgggagag caacggccag cccgagaaca actacaagac caccccccct 1200

gtgctggaca gcgatggcag cttcttcctg tacagcaagc tgaccgtgga caagagcaga 1260

tggcagcagg gcaacgtgtt cagctgctcc gtgatgcacg aggccctgca caatcactac 1320

acccagaaga gcctgagcct gtcccctggc aag 1353

<210> 156

<211> 451

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 156

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp His

20 25 30

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

225 230 235 240

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met

245 250 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His

260 265 270

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val

275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr

290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly

305 310 315 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile

325 330 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro

385 390 395 400

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

405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met

420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
435 440 445

Pro Gly Lys
450

<210> 157

<211> 1353

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 157

caggtgaccc tgagggagag cggccccgcc ctggtgaagc ccacccagac cctgaccctg 60

acctgcacct tcagcggctt tagcctcagc acctccggca tgggcgtgag ctggatcagg 120

cagccacccg gcaaaggcct ggagtggctg gcccacatct actgggacga cgacaagagg 180

tacaacccca gcctgaagag ccggctgacc atcagcaagg ataccagcag gaaccaggtg 240

gtgctgacca tgaccaacat ggaccccgtg gacaccgcta cctactactg cgccaggagg 300

gagaccgtct tctactggta cttcgacgtg tggggaaggg gcacactagt gaccgtgtcc 360

agcgccagca ccaagggccc cagcgtgttc cccctggccc ccagcagcaa gagcaccagc 420

ggcggcacag ccgccctggg ctgcctggtg aaggactact tccccgaacc ggtgaccgtg 480

tcctggaaca gcggagccct gaccagcggc gtgcacacct tccccgccgt gctgcagagc 540

agcggcctgt acagcctgag cagcgtggtg accgtgccca gcagcagcct gggcacccag 600

acctacatct gtaacgtgaa ccacaagccc agcaacacca aggtggacaa gaaggtggag 660

cccaagagct gtgacaagac ccacacctgc ccccccctgcc ctgcccccga gctgctggga 720

ggccccagcg tgttcctgtt ccccccccaag cctaaggaca ccctgtacat caccagagag 780

cccgaggtga cctgtgtggt ggtggatgtg agccacgagg accctgaggt gaagttcaac 840

tggtacgtgg acggcgtgga ggtgcacaat gccaagacca agcccaggga ggagcagtac 900

aacagcacct accgggtggt gtccgtgctg accgtgctgc accaggattg gctgaacggc 960

aaggagtaca agtgtaaggt gtccaacaag gccctgcctg cccctatcga gaaaaccatc 1020

agcaaggcca agggccagcc cagagagccc caggtgtaca ccctgccccc tagcagagat 1080

gagctgacca agaaccaggt gtccctgacc tgcctggtga agggcttcta ccccagcgac 1140

atcgccgtgg agtgggagag caacggccag cccgagaaca actacaagac cacccccccct 1200

gtgctggaca gcgatggcag cttcttcctg tacagcaagc tgaccgtgga caagagcaga 1260

tggcagcagg gcaacgtgtt cagctgctcc gtgatgcacg aggccctgca caatcactac 1320

acccagaaga gcctgagcct gtcccctggc aag 1353

<210> 158

<211> 451

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 158

Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln

1 5 10 15

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

210 215 220

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly

225 230 235 240

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Tyr

245 250 255

Ile Thr Arg Glu Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His

260 265 270

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val

275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr

290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly

305 310 315 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile

325 330 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro

385 390 395 400

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

405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
435 440 445

Pro Gly Lys
450

<210> 159

<211> 654

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 159

gacatcgtgc tgacccagag cccctcttcc ctgagcgcaa gcgtgggcga tagggtgacc 60

atcacctgca aggccagcca gagcgtggac tacgacggcg acagctacat gaactggtac 120

cagcagaagc ccggcaaggc ccccaaactg ctgatctacg ccgccagcaa cctcgagtca 180

ggcattccca gcaggtttag cggcagcggc agcggcaccg acttcacctt cacaatcagc 240

agcctgcagc ccgaggacat cgccacctac tactgccagc agagcaacga ggaccctccc 300

accttcggac agggcaccaa ggtcgagatc aagcgtacgg tggccgcccc cagcgtgttc 360

atcttccccc ccagcgatga gcagctgaag agcggcaccg ccagcgtggt gtgtctgctg 420

aacaacttct acccccggga ggccaaggtg cagtggaagg tggacaatgc cctgcagagc 480

ggcaacagcc aggagagcgt gaccgagcag gacagcaagg actccaccta cagcctgagc 540

agcaccctga ccctgagcaa ggccgactac gagaagcaca aggtgtacgc ctgtgaggtg 600

acccaccagg gcctgtccag ccccgtgacc aagagcttca accggggcga gtgc 654

<210> 160

<211> 218

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 160

Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Asp

20 25 30

Gly Asp Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro

35 40 45

Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Ile Pro Ser

50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser

65 70 75 80

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn

85 90 95

Glu Asp Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105 110
Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
115 120 125
Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
130 135 140
Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
145 150 155 160
Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
165 170 175
Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
180 185 190
His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
195 200 205
Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 161

<211> 451

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 161

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

```
            180                 185                 190
Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
        195                 200                 205
Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
    210                 215                 220
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
225                 230                 235                 240
Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
                245                 250                 255
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
            260                 265                 270
Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
        275                 280                 285
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
    290                 295                 300
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
305                 310                 315                 320
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
                325                 330                 335
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
            340                 345                 350
Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
        355                 360                 365
Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
    370                 375                 380
```

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385 390 395 400
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
405 410 415
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
420 425 430
His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
435 440 445
Pro Gly Lys
450

<210> 162
<211> 451
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia humanizada

<400> 162
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
20 25 30

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

225 230 235 240

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met

245 250 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His

260 265 270

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val

275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr

290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly

305 310 315 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile

325 330 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val

340 345 350

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser

355 360 365

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

370 375 380

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro

385 390 395 400

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

405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Leu

420 425 430

His Glu Ala Leu His Ser His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
435 440 445
Pro Gly Lys
450

<210> 163
<211> 330
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia humanizada

<400> 163
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

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

275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn

290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ser His Tyr Thr

305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325 330

<210> 164

<211> 451

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 164

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr

20 25 30

Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ser Ala Ile Thr Trp Asn Ser Gly His Ile Asp Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

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

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

450

<210> 165

<211> 330

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 165

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80
Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys

100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro

115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys

130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp

145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu

165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu

180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn

195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly

210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu

225 230 235 240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr

245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn

260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe

275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn

290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu Lys Phe His Tyr Thr
305 310 315 320
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 166
<211> 451
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia humanizada

<400> 166
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
20 25 30
Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Ala Ile Thr Trp Asn Ser Gly His Ile Asp Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

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

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

<210> 167

<211> 330

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 167

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80
Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110
Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

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

325 330

<210> 168

<211> 450

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 168

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
20 25 30

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

Ser Ala Ile Thr Trp Asn Ser Gly His Ile Asp Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Val Ser Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Ser Leu Asp Tyr Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser

115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala

130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val

145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala

165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val

180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His

195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys

210 215 220

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly

225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile

245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu

260 265 270

Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His

275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg

290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320
Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335
Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350
Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365
Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380
Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met
385 390 395 400
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415
Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His
420 425 430
Glu Ala Leu His Ser His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445
Gly Lys
450

<210> 169
<211> 329
<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 169

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

145 150 155 160

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu

165 170 175

Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His

180 185 190

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys

195 200 205

Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln

210 215 220

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met

225 230 235 240

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro

245 250 255

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn

260 265 270

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu

275 280 285

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val

290 295 300

Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ser His Tyr Thr Gln

305 310 315 320

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325

<210> 170

<211> 126

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 170

```
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1               5                  10                  15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ile Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30
Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Asn Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45
Ala Phe Met Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Lys Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Arg Asp Arg Gly Ile Ala Ala Gly Gly Asn Tyr Tyr Tyr Tyr Gly
            100                 105                 110
Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
        115                 120                 125
```

<210> 171

<211> 110

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 171

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Tyr Ser Tyr
20 25 30

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

Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Pro
85 90 95

Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys Arg Thr
100 105 110

<210> 172

<211> 456

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 172

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ile Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

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

Ala Phe Met Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Lys Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Asp Arg Gly Ile Ala Ala Gly Gly Asn Tyr Tyr Tyr Tyr Gly
100 105 110

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

305 310 315 320

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala

325 330 335

Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro

340 345 350

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr

355 360 365

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser

370 375 380

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr

385 390 395 400

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr

405 410 415

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe

420 425 430

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys

435 440 445

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

450 455

<210> 173

<211> 215

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 173

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Tyr Ser Tyr
20 25 30

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

Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Pro
85 90 95

Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys Arg Thr Val Ala
100 105 110

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
115 120 125

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
130 135 140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
145 150 155 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
165 170 175
Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
180 185 190
Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
195 200 205
Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 174
<211> 120
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia humanizada

<400> 174
Glu Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Met Lys Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Ile Phe Ser Asn His
20 25 30
Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Glu Ile Arg Ser Lys Ser Ile Asn Ser Ala Thr His Tyr Ala Glu
50 55 60
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser Ala
65 70 75 80
Val Tyr Leu Gln Met Thr Asp Leu Arg Thr Glu Asp Thr Gly Val Tyr
85 90 95
Tyr Cys Ser Arg Asn Tyr Tyr Gly Ser Thr Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 175
<211> 109
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia humanizada

<400> 175
Asp Ile Leu Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Leu Ser Val Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Val Ser Phe Ser Cys Arg Ala Ser Gln Phe Val Gly Ser Ser
20 25 30

Ile His Trp Tyr Gln Gln Arg Thr Asn Gly Ser Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45
Lys Tyr Ala Ser Glu Ser Met Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Ser Ile Asn Thr Val Glu Ser
65 70 75 80
Glu Asp Ile Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser His Ser Trp Pro Phe
85 90 95
Thr Phe Gly Ser Gly Thr Asn Leu Glu Val Lys Arg Thr
100 105

<210> 176
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia humanizada

<400> 176
Glu Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Met Lys Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Ile Phe Ser Asn His
20 25 30

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

225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile

245 250 255

Thr Arg Glu Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu

260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His

275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg

290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys

305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu

325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr

340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu

355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp

370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val

385 390 395 400

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

405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His

420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly Lys
450

<210> 177

<211> 214

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 177

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

Glu Arg Val Ser Phe Ser Cys Arg Ala Ser Gln Phe Val Gly Ser Ser
20 25 30

Ile His Trp Tyr Gln Gln Arg Thr Asn Gly Ser Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

Lys Tyr Ala Ser Glu Ser Met Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Ser Ile Asn Thr Val Glu Ser
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser His Ser Trp Pro Phe
85 90 95
Thr Phe Gly Ser Gly Thr Asn Leu Glu Val Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 178

<211> 118

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 178

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Val Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

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

Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Ile Gly Glu Pro Ile Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Phe Ser Leu Asp Thr Ser Lys Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Tyr Arg Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 179

<211> 109

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 179

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Asn
20 25 30
Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Ala Leu Ile
35 40 45
Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Tyr Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ile Tyr Pro Leu
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105

<210> 180

<211> 229

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 180

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Val Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

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

Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Ile Gly Glu Pro Ile Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Phe Ser Leu Asp Thr Ser Lys Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Tyr Arg Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
115 120 125

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn

145 150 155 160

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln

165 170 175

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser

180 185 190

Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser

195 200 205

Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr

210 215 220

His Thr Cys Ala Ala

225

PATENT COOPERATION TREATY

From the
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

To

see form PCT/ISA/220

PCT

WRITTEN OPINION OF THE INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

(PCT Rule 43*bis*.1)

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

Applicant's or agent's file reference
see form PCT/ISA/220

FOR FURTHER ACTION
See paragraph 2 below

International application No	International filing date *(day/month/year)*	Priority date *(day/month/year)*
PCT/EP2012/064129	19 07 2012	19 07 2011

International Patent Classification (IPC) or both national classification and IPC
INV C07K16/24

Applicant
GLAXO GROUP LIMITED

1 This opinion contains indications relating to the following items

- ☒ Box No I Basis of the opinion
- ☐ Box No II Priority
- ☐ Box No III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- ☒ Box No IV Lack of unity of invention
- ☒ Box No V Reasoned statement under Rule 43*bis* 1(a)(i) with regard to novelty, inventive step and industrial applicability, citations and explanations supporting such statement
- ☐ Box No VI Certain documents cited
- ☐ Box No VII Certain defects in the international application
- ☒ Box No VIII Certain observations on the international application

2 **FURTHER ACTION**

If a demand for international preliminary examination is made, this opinion will usually be considered to be a written opinion of the International Preliminary Examining Authority ("IPEA") except that this does not apply where the applicant chooses an Authority other than this one to be the IPEA and the chosen IPEA has notifed the International Bureau under Rule 66 1*bis*(b) that written opinions of this International Searching Authority will not be so considered

If this opinion is, as provided above, considered to be a written opinion of the IPEA, the applicant is invited to submit to the IPEA a written reply together, where appropriate, with amendments, before the expiration of 3 months from the date of mailing of Form PCT/ISA/220 or before the expiration of 22 months from the priority date, whichever expires later

For further options, see Form PCT/ISA/220

Name and mailing address of the ISA	Date of completion of this opinion	Authorized Officer
European Patent Office D-80298 Munich Tel +49 89 2399 - 0 Fax +49 89 2399 - 4465	see form PCT/ISA/210	Ferreira, Roger Telephone No +49 89 2399-2711

Box No. I Basis of the opinion

1 With regard to the **language**, this opinion has been established on the basis of

☒ the international application in the language in which it was filed

☐ a translation of the international application into , which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12 3(a) and 23 1 (b))

2 ☐ This opinion has been established taking into account the **rectification of an obvious mistake** authorized by or notified to this Authority under Rule 91 (Rule 43bis 1(a))

3 With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, this opinion has been established on the basis of a sequence listing filed or furnished

a (means)

☐ on paper

☒ in electronic form

b (time)

☒ in the international application as filed

☐ together with the international application in electronic form

☐ subsequently to this Authority for the purposes of search

4 ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished

5 Additional comments

Box No. IV Lack of unity of invention

1 ☒ In response to the invitation (Form PCT/ISA/206) to pay additional fees, the applicant has, within the applicable time limit

- ☒ paid additional fees
- ☐ paid additional fees under protest and, where applicable, the protest fee
- ☐ paid additional fees under protest but the applicable protest fee was not paid
- ☐ not paid additional fees

2 ☐ This Authority found that the requirement of unity of invention is not complied with and chose not to invite the applicant to pay additional fees

3 This Authority considers that the requirement of unity of invention in accordance with Rule 13.1, 13.2 and 13.3 is

- ☐ complied with
- ☒ not complied with for the following reasons

see separate sheet

4 Consequently, this report has been established in respect of the following parts of the international application

- ☒ all parts
- ☐ the parts relating to claims Nos 1-44

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

1 Statement

Novelty (N)	Yes	Claims	40, 41, 44
	No	Claims	1-39, 42, 43
Inventive step (IS)	Yes	Claims	
	No	Claims	1-44
Industrial applicability (IA)	Yes	Claims	1-44
	No	Claims	

2 Citations and explanations

see separate sheet

Box No. VIII Certain observations on the international application

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

see separate sheet

Re Item IV

1 **Unity of the invention, Rule 13 PCT**

1.1 This Authority has found two (groups of) inventions covered by the claims of the present application as follows.

Invention 1: Claims 1-35 (all completely)
Subject-matter of claims 1-35 which relates to an **antigen binding protein** (*e.g.* an **antibody**) which specifically binds to **TNF-alpha** comprising
(i) **CDRH1** (SEQ ID No. 27), **CDRH2** (SEQ ID No. 28), **CDRH3** (SEQ ID No 29), **CDRL1** (SEQ ID No. 30), **CDRL2** (SEQ ID No 31) and **CDRL3** (SEQ ID No 32) or a **CDR variant** thereof which contains **1, 2, 3 or 4 amino acid substitutions, insertions or deletions** as compared to CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 or CDRL3 and
(ii) a **neonatal Fc receptor** (**FcRn**) **binding portion** of a **human IgG1 constant domain** comprising **one of more amino acid substitutions** relative to the human IgG1 constant domain,
wherein the antigen binding protein has an **increased FcRn binding affinity** at pH 6 and/or **increased half-life** as compared to an IgG comprising the **light chain** (**VL**) sequence of SEQ ID No 2 and the **heavy chain** (**VH**) sequence of SEQ ID No 12.

Invention 2 Claims 36-44 (all completely)
Subject-matter of claims 36-44 which relates to a **liquid formulation** comprising a **TNF-alpha antigen binding protein** and an **acetate buffer**.

It is brought to the attention of the Applicant that each invention (or group of inventions) might contain more than one invention (or group of inventions) not linked as to form a single general inventive concept.

1 2 The application lacks unity within the meaning of Rule 13(1) PCT for the following reasons

1 3 The **common link** between said (groups of) inventions is the **provision of antigen binding proteins which specifically bind to TNF-alpha**.

This link cannot be considered as a **single general inventive concept**, as required by Rule 13.1 PCT, for the following reasons

1 4 The prior art has been identified as document **D1** (US 2009/163699)

D1 discloses (see, *e.g.* abstract, paragraphs [0014]-[0021] and [0126]-[0132]; claims 1-19, figures 1-23; examples 1-7; SEQ ID Nos. 23 and 24) an anti-TNF-alpha antibody which comprises a VL sequence (of SEQ ID No 23) and a VH sequence (of SEQ ID No 24) which share 100% identity with the

sequences as set forth, respectively, in SEQ ID Nos. 2 and 12 of the present application. This document further discloses the introduction of substitutions (at positions 250, 252, 254, 256, 257, 259, 307, 308, 428 and 434, wherein the numbering is according to EU index of Kabat) in the FcRn binding portion of the IgG1 constant domain of said antibody in order to increase FcRn binding affinity and/or increase half-life as compared to the parent antibody

Therefore, said **common link** between said (groups of) inventions is **not novel**.

1 5 In the light of the prior art, the problem to be solved by the present application might be regarded as the **provision of alternative ways/means for stabilizing an antigen binding protein which specifically binds to TNF-alpha**

1 6 The solutions as claimed and disclosed are the specific substitutions introduced into the FcRn binding portion (Invention 1: Claims 1-35) and the formulation of the antigen binding protein in an acetate buffer (Invention 2: Claims 36-44). These different solutions to the given technical problem do **not** share any **common structural element**, and **no** other feature could be identified which might be considered to represent a **special technical feature** shared by the different (groups of) inventions

1 7 Therefore, each of said (groups of) inventions represents a separate solution to the given problem, thereby giving rise to two different (groups of) inventions.

1 8 The application, hence, does not meet the requirements of unity of the invention as defined in Rules 13 1 and 13 2 PCT. The International search report and the present opinion have been drawn up for the invention first mentioned in the claims, *i.e.* Invention 1 Claims 1-35 (all completely), as well as for the other invention for which an additional search fee has been paid, *i.e.* Invention 2· Claims 36-44 (all completely)

Re Item V

Invention 1

Reference is made to the following document:

D1 US 2009/163699 A1 (CHAMBERLAIN AARON KEITH [US] ET AL) 25 June 2009 (2009-06-25)

1 **Novelty, Article 33(3) PCT**

1 1 The present application does not meet the criteria of Article 33(1) PCT, because the subject-matter of claims 1-35 is not new in the sense of Article 33 (2) PCT.

1 2 **D1** discloses (see, *e.g* abstract; paragraphs [0014]-[0021] and [0126]-[0132]; claims 1-19; figures 1-23, examples 1-7, SEQ ID Nos 23 and 24) an anti-TNF-alpha antibody which comprises a VL sequence (of SEQ ID No. 23) and a VH sequence (of SEQ ID No. 24) which share 100% identity with the sequences as set forth, respectively, in SEQ ID Nos 2 and 12 of the present application This document further discloses the introduction of substitutions (at positions 250, 252, 254, 256, 257, 259, 307, 308, 428 and 434, wherein the numbering is according to EU index of Kabat) in the FcRn binding portion of the IgG1 constant domain of said antibody in order to increase FcRn binding affinity and/or increase half-life as compared to the parent antibody. The use of said antibody in therapeutic applications is also described in D1.
D1 thus anticipates the subject-matter of claims 1-35

2 **Remarks concerning claims 7-10 and 29-32**

2.1 The patentability can be dependent upon the formulation of the claims The EPO, for example, does not recognize as patentable claims to the use of a compound in medical treatment, but may allow claims to a product, in particular substances or compositions for use in a first or further medical treatment

2.2 Patentability, in particular novelty and inventive step, of claims 29-31 has been assessed on the basis of a purpose-limited product claim taking into account the alleged effects of the compound/composition.

Invention 2

Reference is made to the following documents:

D2 WO 2010/102251 A2 (ABBOTT LAB [US]; HSIEH CHUNG-MING [US], HUGUNIN MARGARET; MURTAZA ANWA) 10 September 2010 (2010-09-10)

D3 WO 2008/057240 A2 (ABBOTT BIOTECH LTD [GB]; BORHANI DAVID W [US], FRAUNHOFER WOLFGANG [US) 15 May 2008 (2008-05-15)

D4 WO 2009/073805 A2 (VERDEZYNE INC [US], KITTLE JOSEPH D [US]) 11 June 2009 (2009-06-11)

D5 WO 2009/083246 A1 (BAYER SCHERING PHARMA AG [DE], VOTSMEIER CHRISTIAN [DE], GRITZAN UWE [) 9 July 2009 (2009-07-09)

3 Novelty, Article 33(2) PCT

3.1 The present application does not meet the criteria of Article 33(1) PCT, because the subject-matter of claims 36-39, 42 and 43 is not new in the sense of Article 33(2) PCT

3.2 **D2** discloses (see, *e.g.* abstract; page 3, line 1 to page 32, line 26; page 35, line 24 to page 36, line 26; page 84, line 23 to page 86, line 18; page 131, line 19 to page 132, line 5; claims 1-201; examples 1-6) a liquid formulation comprising a TNF-alpha binding antigen binding molecule (*i.e.* an anti-TNF-alpha antibody) and an acetate buffer. Said formulation does not comprise a polyol and further contains a surfactant, a chelator, a salt and/or an amino acid D2 further describes that the TNF-alpha antigen binding protein is at a concentration of 50 mg/mL and that the pH is adjusted to about pH 5.5.
D2 thus anticipates the subject-matter of claims 36-39, 42 and 43.

3.3 For the sake of completeness, it is pointed out that **D3** (see, *e.g.* abstract; page 6, line 15 to page 13, line 20, page 19, line 14 to page 20, line 22; claims 1-41, figures 1-7; examples 1-47) also anticipates the subject-matter of claims 36-39, 42 and 43 and that each of the documents **D4** (see, *e.g.* abstract; paragraphs [0005]-[0029] and [0102]; claims 1-16; figures 1-18, examples 1-6) and **D5** (see, *e.g.* abstract, paragraphs [0003]-[0009] and [0075], claims 1-16; figures 1-34, examples) also anticipates the subject-matter of claims 36-38

3 4 Claims 40, 41 and 44 appear to be novel in view of the cited prior art documents

4 Inventive step, Article 33(3) PCT

4.1 The present application does not meet the criteria of Article 33(1) PCT, because the subject-matter of claims 40, 41 and 44 does not involve an inventive step in the sense of Article 33(3) PCT.

4.2 In absence of any apparent surprising technical effect associated to the additional features introduced by dependent claims 40, 41 and 44 over the liquid formulations disclosed in D2 and/or D3, these features do not appear to add anything of inventive significance to the subject-matter of independent claim 1, when considering one of the documents D2 and D3 as the closest prior art

As a consequence, claims 40, 41 and 44 appear not to comply with the requirements of Article 33(3) PCT

Re Item VIII

Invention 1

1 **Sufficiency of disclosure, Support and Clarity, Articles 5 and 6 PCT**

1.1 Although claims 1-4 have been drafted as separate independent claims, they appear to relate effectively to the same subject-matter and to differ from each other only with regard to the definition of the subject-matter for which protection is sought and/or in respect of the terminology used for the features of that subject-matter. The aforementioned claims therefore lack conciseness and as such do not meet the requirements of Article 6 PCT.

1.2 Claims 1-4, 7 and 11-14 do not meet the requirements of Article 6 PCT because the matter for which protection is sought is not clearly defined. The claims attempt to define the subject-matter in terms of the **result to be achieved**, which merely amounts to a statement of the underlying problem, without providing the technical features necessary for achieving this result (*e.g.* by use of structural/technical features).

The absence of technical/structural definitions of part of the subject-matter of claims 1-4, 7 and 11-14 gives rise to a lack of disclosure, support and clarity due to the lack of **features** that are **crucial and essential** to carry out the invention over the entire scope claimed (Articles 5 and 6 PCT).

1.3 The terms "**variant**", used in claims 1-4 and 25, is vague and unclear and leaves the reader in doubt as to the meaning of the technical features to which it refers, thereby rendering the definition of the subject-matter of said claims unclear, Article 6 PCT.

1 4 The relative and vague term "**comparable**", used in claims 1 and 7, has no well-recognized meaning and leaves the reader in doubt as to the meaning of the technical features to which it refers, thereby rendering the definition of the subject-matter of said claims unclear, Article 6 PCT.

1 5 Applicant's attention is brought to the fact that features **in parentheses**, as used in claims 1-3, are **optional** and are, therefore, not considered to limit the scope of the claims Their presence in the claims only renders the claimed subject-matter unclear (Article 6 PCT)

1 6 Medical use claim 7 is considered unclear (Article 6 PCT) because the therapeutic application mentioned therein is not defined.

Invention 2

2 **Sufficiency of disclosure, Support and Clarity, Articles 5 and 6 PCT**

2.1 As far as the claims employ the functional feature " **TNF-alpha antigen binding protein**", they lack clarity and support of disclosure within the meaning of Articles 5 and 6 PCT, because said functional definition solely refers to the technical effect of the desired compound and in no way provides information as to the structural or technical features thereof. Apart from rendering the claims unclear, said functional definition puts an undue burden on the skilled person seeking to establish the scope of the referred functional feature, so as to be able to carry out the invention over the whole scope of the claims

2.2 The term "**about**" used in claims 41, 42 and 44 is vague and unclear and leaves the reader in doubt as to the meaning of the technical feature to which it refers, thereby rendering the definition of the subject-matter of said claims unclear, Article 6 PCT

2.3 Claim 44 does not meet the requirements of Article 6 PCT because the matter for which protection is sought is not clearly defined The claim attempts to define the subject-matter in terms of the **result to be achieved**, which merely amounts to a statement of the underlying problem, without providing the technical features necessary for achieving this result (*e.g.* by use of technical/ structural features).

The absence of technical/structural definition of the subject-matter of claim 44 gives rise to a lack of disclosure, support and clarity due to the lack of **features** that are **crucial** and **essential** to carry out the invention over the entire scope claimed (Articles 5 and 6 PCT)

Possible steps after receipt of the international search report (ISR) and written opinion of the International Searching Authority (WO-ISA)

General information	For all international applications filed on or after 01/01/2004 the competent ISA will establish an ISR. It is accompanied by the WO-ISA. Unlike the former written opinion of the IPEA (Rule 66.2 PCT), the WO-ISA is not meant to be responded to, but to be taken into consideration for further procedural steps. This document explains about the possibilities.
Amending claims under Art. 19 PCT	Within 2 months after the date of mailing of the ISR and the WO-ISA the applicant may file amended claims under Art. 19 PCT directly with the International Bureau of WIPO. The PCT reform of 2004 did not change this procedure. For further information please see Rule 46 PCT as well as form PCT/ISA/220 and the corresponding Notes to form PCT/ISA/220.
Filing a demand for international preliminary examination	In principle, the WO-ISA will be considered as the written opinion of the IPEA. This should, in many cases, make it unnecessary to file a demand for international preliminary examination. If the applicant nevertheless wishes to file a demand this must be done before expiry of 3 months after the date of mailing of the ISR/WO-ISA or 22 months after priority date, whichever expires later (Rule 54bis PCT). Amendments under Art. 34 PCT can be filed with the IPEA as before, normally at the same time as filing the demand (Rule 66.1 (b) PCT). If a demand for international preliminary examination is filed and no comments/amendments have been received the WO-ISA will be transformed by the IPEA into an IPRP (International Preliminary Report on Patentability) which would merely reflect the content of the WO-ISA. The demand can still be withdrawn (Art. 37 PCT)
Filing informal comments	After receipt of the ISR/WO-ISA the applicant may file informal comments on the WO-ISA directly with the International Bureau of WIPO. These will be communicated to the designated Offices together with the IPRP (International Preliminary Report on Patentability) at 30 months from the priority date. Please also refer to the next box
End of the international phase	At the end of the international phase the International Bureau of WIPO will transform the WO-ISA or, if a demand was filed, the written opinion of the IPEA into the IPRP, which will then be transmitted together with possible informal comments to the designated Offices. The IPRP replaces the former IPER (international preliminary examination report)
Relevant PCT Rules and more information	Rule 43 PCT, Rule 43bis PCT, Rule 44 PCT, Rule 44bis PCT, PCT Newsletter 12/2003, OJ 11/2003, OJ 12/2003

Bitte beachten Sie, dass angeführte Nichtpatentliteratur (wie z. B. wissenschaftliche oder technische Dokumente) je nach geltendem Recht dem Urheberrechtsschutz und/oder anderen Schutzarten für schriftliche Werke unterliegen könnte. Die Vervielfältigung urheberrechtlich geschützter Texte, ihre Verwendung in anderen elektronischen oder gedruckten Publikationen und ihre Weitergabe an Dritte ist ohne ausdrückliche Zustimmung des Rechtsinhabers nicht gestattet.

Veuillez noter que les ouvrages de la littérature non-brevets qui sont cités, par exemple les documents scientifiques ou techniques, etc., peuvent être protégés par des droits d'auteur et/ou toute autre protection des écrits prévue par les législations applicables. Les textes ainsi protégés ne peuvent être reproduits ni utilisés dans d'autres publications électroniques ou imprimées, ni rediffusés sans l'autorisation expresse du titulaire du droit d'auteur.

Please be aware that cited works of non-patent literature such as scientific or technical documents or the like may be subject to copyright protection and/or any other protection of written works as appropriate based on applicable laws. Copyrighted texts may not be copied or used in other electronic or printed publications or re-distributed without the express permission of the copyright holder.

XS CPRTENFRDE

ANEXO

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

ALICIA LLOREDA RICAURTE

T.P. No. 53.215

TRADUCCION OFICIAL No. 2004-09-02-440

DE LAS PARTES PERTINENTES DE UN DOCUMENTO

PRESENTADO EN INGLES

PODER

Legalización de un Poder de Representación Legal, Documento escrito en inglés y en español.

Notarización del documento es español.
Hay un sello rojo sobre una cinta verde.

APOSTILLA

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

Reino Unido de la Gran Bretaña e Irlanda del Norte

1. País: Reino Unido de la Gran Bretaña e Irlanda del Norte
   Este documento público
2. ha sido firmado por Martin E Buchner
3. actuando como Notario Público
4. lleva el sello/estampilla de dicho Notario Público

CERTIFICADO

5. en Londres
6. el 26 de agosto de 2004
7. por el Secretario de Estado Principal de Su Majestad para Asuntos Exteriores y del Commonwealth
8. Número G499865
9. Sello/Estampilla
   Sello de la Oficina de Asuntos
10. Firma: (ilegible)
    M. Monaghan

TRADUCTOR OFICIAL
RESOLUCION 2177

ANITA ESCOBAR DE TAMAYO

MINISTERIO DE
RELACIONES EXTERIORES

258650
Anita Escobar
CUYA FIRMA APARECE EN EL
DOCUMENTO DESEMPEÑA
LAS FUNCIONES INDICADAS

NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

2004 SET -3 P 12:12
Mes
JEFE DE LEGALIZACIONES
BOGOTA D.C.

Exteriores y del Commonwealth Por el Secretario de Estado

Si este documento se va a usar en un país que no es parte de la Convención de La Haya del 5 de octubre de 1961, debe presentarse en la sección consular de la misión que representa a ese país. Una apostilla o certificado de legalización únicamente confirma que la firma, sello o estampilla sobre el documento es autentica. No significa que los contenidos del documento sean correctos o que la Oficina de Asuntos Exteriores y del Commonwealth apruebe los contenidos.

Traducido a mi mejor saber y entender, este día 2 de septiembre de 2004, en la ciudad de Bogotá, D.C., por Anita Escobar de Tamayo, Traductora Oficial, Res. 2177 de 1989, Ministerio de Justicia, República de Colombia.

TRADUCTOR OFICIAL
RESOLUCION 2177

ANITA ESCOBAR DE TAMAYO

JOSE LLOREDA CAMACHO & CO

Yo, el infrascrito, **Martin Emil BUCHNER**, Notario Público de la Ciudad de Londres, Inglaterra, por la Autoridad Real debidamente admitido y juramentado,

C E R T I F I C O:

QUE es auténtica la firma suscrita al pie del adjunto Poder, por ser del puño y letra del Señor Don **Peter John GIDDINGS**, cuya identidad me consta, Apoderado de la Sociedad inglesa denominada **"GLAXO GROUP LIMITED"**, Sociedad legalmente constituída y existente de acuerdo con las leyes de Inglaterra, e inscrita en la Oficina de Registro de Sociedades bajo el número **305979**, con domicilio social en Glaxo Wellcome House, Berkeley Avenue, Greenford, Middlesex UB6 ONN, Inglaterra;

QUE el citado Señor Don **Peter John GIDDINGS** está debida y suficientemente autorizado para firmar documentos de esta clase, en virtud del Poder otorgado en su favor por la referida Sociedad fechado el 30 de enero de 2003, una copia del cual he tenido a la vista;

Y QUE los objetos para los cuales se otorgó dicho Poder se encuentran dentro de los objetos o actividades de la citada Sociedad, de acuerdo con la Escritura Constitutiva y los Estatutos Sociales, los cuales he tenido a la vista.

Y PARA QUE CONSTE donde y como convenga y fuere necesario expido el presente Certificado que firmo y sello en dicha Ciudad de Londres, el día de hoy veintiseis de agosto del año dos mil cuatro.

Martin Emil BUCHNER
Notario Público de Londres, Inglaterra

SCRIVENER NOTARIES

DE PINNA
35 Piccadilly London W1J 0LJ
Telephone:+44 (0)20 7208 2900 Facsimile: +44 (0)20 7208 0066 DX No. 48521 Piccadilly 2

APOSTILLE
(Hague Convention of 5 October 1961 / Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

UNITED KINGDOM OF GREAT BRITAIN AND NORTHERN IRELAND

1. Country: United Kingdom of Great Britain and Northern Ireland
   Pays: Royaume-Uni de Grande-Bretagne et d'Irlande du Nord

   This public document / Le présent acte public

2. Has been signed by **Martin E Buchner**
   a été signé par

3. Acting in the capacity of **Notary Public**
   agissant en qualité de

4. Bears the seal/stamp of **The Said Notary Public**
   est revêtu du sceau/timbre de

Certified/Attesté

5. at London/à Londres

6. the/le **26 August 2004**

7. by Her Majesty's Principal Secretary of State for Foreign and Commonwealth Affairs /
   par le Secrétaire d'Etat Principal de Sa Majesté aux Affaires Etrangères et du Commonwealth.

8. Number/sous No **G499865**

9. Stamp:
   timbre:

10. Signature: **M. Monaghan**

FOREIGN AND COMMONWEALTH OFFICE LONDON

For the Secretary of State / Pour le Secrétaire d'Etat

If this document is to be used in a country which is not party to the Hague Convention of 5 October 1961, it should be presented to the consular section of the mission representing that country. An apostille or legalisation certificate only confirms that the signature, seal or stamp on the document is genuine. It does not mean that the contents of the document are correct or that the Foreign & Commonwealth Office approves of the contents.

Los abajo firmados, **GLAXO GROUP LIMITED**, una sociedad organizada y existente de conformidad con las leyes de Inglaterra y Gales..

con domicilio en **Glaxo Wellcome House**
Berkeley Avenue
Greenford Middlesex UB6 0NN
Inglaterra

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

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

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

Dado y firmado

The undersigned, **GLAXO GROUP LIMITED**, a corporation organized and existing under the laws of England and Wales.

domiciled at **Glaxo Wellcome House**
Berkeley Avenue
Greenford Middlesex UB6 0NN
Great Britain

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 23 AUG 2004

Peter John GIDDINGS as Attorney and
Authorised Official
NOTARY SHOULD EXECUTE OTHER SIDE

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

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau

(43) International Publication Date
24 January 2013 (24.01.2013)

WIPO | PCT

(10) International Publication Number
WO 2013/011076 A2

(51) **International Patent Classification**:
C07K 16/24 (2006.01)

(21) **International Application Number**:
PCT/EP2012/064129

(22) **International Filing Date**:
19 July 2012 (19.07.2012)

(25) **Filing Language**: English

(26) **Publication Language**: English

(30) **Priority Data**:
1112429.4 19 July 2011 (19.07.2011) GB

(71) **Applicant** *(for all designated States except US)*: **GLAXO GROUP LIMITED** [GB/GB]; Glaxo Wellcome House, Berkeley Avenue, Greenford, Middlesex UB6 0NN (GB).

(72) **Inventors; and**

(75) **Inventors/Applicants** *(for US only)*: **ELLIS, Jonathan, Henry** [GB/GB]; GlaxoSmithKline, Gunnels Wood Road, Stevenage Hertfordshire SG1 2NY (GB). **MOLLOY, Michael, J** [IE/GB]; GlaxoSmithKline, Gunnels Wood Road, Stevenage, Hertfordshire SG1 2NY (GB). **SHAH, Tejash** [IN/GB]; GlaxoSmithKline, Gunnels Wood Road, Stevenage, Hertfordshire SG1 2NY (GB). **TOMLINSON, Ian, M** [GB/GB]; GlaxoSmithKline, Gunnels Wood Road, Stevenage, Hertfordshire SG1 2NY (GB). **YASIN, Ahmed** [GB/GB]; GlaxoSmithKline, Gunnels Wood Road, Stevenage, Hertfordshire SG1 2NY (GB).

(74) **Agent**: **KERSHAW, Alison, Lesley**; GlaxoSmithKline, Global Patents (CN925.1), 980 Great West Road, Brentford, Middlesex TW8 9GS (GB).

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

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

Declarations under Rule 4.17:

— *as to applicant's entitlement to apply for and be granted a patent (Rule 4.17(ii))*

— *as to the applicant's entitlement to claim the priority of the earlier application (Rule 4.17(iii))*

— *of inventorship (Rule 4.17(iv))*

Published:

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

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

WO 2013/011076 A2

(54) **Title**: ANTIGEN-BINDING PROTEINS WITH INCREASED FCRN BINDING

(57) **Abstract**: The present invention provides antigen binding proteins which bind specifically to TNF-alpha. For example novel variants of anti-TNF antibodies such as adalimumab which show increased binding to the FcRn receptor or increased half life compared to adalimumab. Also provided are compositions comprising the antigen binding proteins and uses of such compositions in treatment of disorders and disease.

TRADUCCIÓN CAPÍTULO REIVINDICATORIO

COMO FUE ORIGINALMENTE PRESENTADO EN

FASE INTERNACIONAL

REIVINDICACIONES

1.- Una proteína de unión a antígeno la cual se une específicamente a TNF-alfa que comprende:

(i) CDRH1 (SEQ ID NO: 27), CDRH2 (SEQ ID NO: 28), CDRH3 (SEQ ID No: 29), CDRL1 (SEQ ID NO: 30), CDRL2 (SEQ ID NO: 31), y CDRL3 (SEQ ID NO: 32); o una variante de CDR de las mismas la cual contiene 1, 2, 3 ó 4 sustituciones, inserciones o deleciones de aminoácido en comparación con CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2, o CDRL3; y

(ii) una porción de unión al receptor Fc neonatal (FcRn) de un dominio constante de IgG1 de humano que comprende una o más sustituciones de aminoácido con relación al dominio constante de IgG1 de humano;

en donde la proteína de unión a antígeno tiene una afinidad de unión a FcRn incrementada a pH 6 y/o tiempo de vida media incrementada en comparación con una IgG que comprende la secuencia de la cadena ligera de SEQ ID No. 2 y la secuencia de la cadena pesada de SEQ ID No.12.

2.- Una proteína de unión a antígeno la cual se une específicamente a TNF-alfa que comprende:

(i) CDRH1 (SEQ ID NO: 27), CDRH2 (SEQ ID NO: 28), CDRH3 (SEQ ID No: 29), CDRL1 (SEQ ID NO: 30), CDRL2 (SEQ ID NO: 31), y CDRL3 (SEQ ID NO: 32); o una variante de CDR de las mismas la cual contiene 1, 2, 3 ó 4 sustituciones, inserciones o deleciones de aminoácido en comparación con CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2, o CDRL3; y

(ii) una porción de unión al receptor Fc neonatal (FcRn) de un dominio constante de IgG1 de humano que comprende una o más sustituciones de aminoácido con relación al dominio constante de IgG1 de humano;

en donde la proteína de unión a antígeno tiene un tiempo de vida media incrementado en comparación con una IgG que comprende la secuencia de la cadena ligera de SEQ ID No. 2 y la secuencia de la cadena pesada de SEQ ID No.12 y la proteína de unión a antígeno se puede administrar no más de una vez cada cuatro semanas para lograr concentración media mínima en estado constante comparable con aquella

lograda por la misma dosis de la IgG que comprende la secuencia de la cadena ligera de SEQ ID No. 2 y la secuencia de la cadena pesada de SEQ ID No.12 administrada una vez cada dos semanas.

3.- Una proteína de unión a antígeno la cual se une específicamente a TNF-alfa que comprende:

(i) CDRH1 (SEQ ID NO: 27), CDRH2 (SEQ ID NO: 28), CDRH3 (SEQ ID No: 29), CDRL1 (SEQ ID NO: 30), CDRL2 (SEQ ID NO: 31), y CDRL3 (SEQ ID NO: 32); o una variante de CDR de las mismas la cual contiene 1, 2, 3 ó 4 sustituciones, inserciones o deleciones de aminoácido en comparación con CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2, o CDRL3; y

(ii) una porción de unión al receptor Fc neonatal (FcRn) de un dominio constante de IgG1 de humano que comprende una o más sustituciones de aminoácido con relación al dominio constante de IgG1 de humano;

en donde la proteína de unión a antígeno tiene una afinidad para FcRn de 4 veces más grande que una proteína de unión a antígeno anti-TNF con las mismas CDR's sin dichas modificaciones a pH 6 según se evalúa mediante el sistema de arreglo de interacción de proteína ProteOn XPR36 a 25ºC, el sistema de arreglo tiene las proteínas de unión a antígeno inmovilizadas en el chip.

4.- Una proteína de unión a antígeno que es una variante de una IgG que comprende la secuencia de la cadena ligera de SEQ ID No. 2 y la secuencia de la cadena pesada de SEQ ID No.12, en donde la variante de la proteína de unión a antígeno comprende una o más sustituciones en la porción de unión al receptor Fc neonatal (FcRn) del dominio constante de IgG para incrementar el tiempo de vida media de la variante de la proteína de unión a antígeno en comparación con la IgG, en el cual cuando la variante se administra a los pacientes en una sola dosis de 40 mg a un intervalo de cuatro a ocho semanas, la concentración media mínima de anticuerpo en estado constante en la población de pacientes no cae por debajo de 5 µg /ml, de preferencia por debajo de 6 µg /ml, entre los intervalos de dosificación.

5.- Una proteína de unión a antígeno de conformidad con cualquier reivindicación precedente que comprende sustituciones de aminoácido con relación al dominio constante de IgG1 de humano en una o más de las posiciones 250, 252, 254, 256, 257, 259, 308, 428 ó 434

numerados de conformidad con el índice UE de Kabat.

6.- Una proteína de unión a antígeno de conformidad con cualquier reivindicación precedente en donde el dominio constante de IgG1 de humano tiene la secuencia de SEQ ID No. 13 antes que se introduzcan las sustituciones de aminoácido.

7.- Una proteína de unión a antígeno de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 para uso como un medicamento para tratar enfermedad en donde la proteína de unión a antígeno se puede administrar a los pacientes no más de una vez cada cuatro semanas para lograr concentración media mínima en estado constante comparable con aquella lograda por la misma dosis de una IgG que comprende la secuencia de la cadena ligera de SEQ ID No. 2 y la secuencia de la cadena pesada de SEQ ID No.12 administrada una vez cada dos semanas.

8.- Una proteína de unión a antígeno de conformidad con cualquier reivindicación precedente para el tratamiento de una enfermedad en donde la proteína de unión a antígeno se administra a los pacientes en una sola dosis entre aproximadamente 35 hasta aproximadamente 45 mg en un intervalo de cuatro a ocho semanas.

9.- Una proteína de unión a antígeno de conformidad con la reivindicación 8 en donde la proteína de unión a antígeno se administra a los pacientes por vía subcutánea como una dosis individual de 40 mg no más de una vez cada cuatro semanas.

10.- Una proteína de unión a antígeno de conformidad con la reivindicación 8 o la reivindicación 9 en donde la proteína de unión a antígeno se administra a los pacientes por vía subcutánea como una dosis individual de 40 mg no más de una vez cada ocho semanas.

11.- Una proteína de unión a antígeno de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 en donde el tiempo de vida media de la proteína de unión a antígeno está incrementado 2 veces, 3 veces, 4 veces o 5 veces en comparación con la IgG nativa.

12.- Una proteína de unión a antígeno de conformidad con cualquier reivindicación precedente en donde la administración de la proteína de unión a antígeno no más de una vez cada cuatro semanas en los pacientes logra la concentración media mínima en estado constante en la población de pacientes de entre aproximadamente 4 µg/ml hasta aproximadamente 7 µg/ml.

13.- Una proteína de unión a antígeno de conformidad con la

reivindicación 12 en donde la concentración media mínima en estado constante está entre aproximadamente 5 µg/ml hasta aproximadamente 6 µg/ml.

14.- Una proteína de unión a antígeno de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13 en donde la depuración de la proteína de unión a antígeno es de aproximadamente 2 ml/hr hasta aproximadamente 4 ml/hr

15.- Una proteína de unión a antígeno de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14 en donde dicha una o más sustituciones de aminoácido están en los residuos de aminoácido 252, 254 y 256 numerados de conformidad con el índice UE de Kabat y la sustitución en el residuo 252 es una sustitución con tyr, phe, trp o thr; la sustitución en el residuo 254 es una sustitución con thr; y la sustitución en el residuo 256 es una sustitución con ser, arg, glu, asp o thr.

16.- Una proteína de unión a antígeno de conformidad con la reivindicación 15 en donde la sustitución en el residuo 252 es una sustitución de met con tyr; la sustitución en el residuo 254 es una sustitución de ser con thr y la sustitución en el residuo 256 es una sustitución de thr con glu.

17.- Una proteína de unión a antígeno de conformidad con cualquier reivindicación precedente que comprende un dominio constante como el mostrado en SEQ ID No: 7

18.- Una proteína de unión a antígeno de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14 en donde dicha una o más sustituciones de aminoácido están en los residuos de aminoácido 250 y 428 numerados de conformidad con el índice UE de Kabat y la sustitución en el residuo 250 es una sustitución con glu o gln; la sustitución en el residuo 428 es una sustitución con leu o phe.

19.- Una proteína de unión a antígeno de conformidad con la reivindicación 18 en donde la sustitución en el residuo 250 es una sustitución de thr con glu y la sustitución en el residuo 428 es una sustitución de met con leu.

20.- Una proteína de unión a antígeno de conformidad con la reivindicación 19 que comprende un dominio constante como el que se muestra en SEQ ID No: 16

21.- Una proteína de unión a antígeno de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14 en donde dicha una o más

sustituciones de aminoácido están en los residuos de aminoácido 428 y 434 numerados de conformidad con el índice UE de Kabat y la sustitución de aminoácido en el residuo 428 es una sustitución de met con leu y la sustitución de aminoácido en el residuo 434 es una sustitución de asn con ser.

22.- Una proteína de unión a antígeno de conformidad con la reivindicación 21 que comprende un dominio constante como el que se muestra en SEQ ID No: 10

23.- Una proteína de unión a antígeno de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 22 en donde la proteína de unión a antígeno es un anticuerpo.

24.- Una proteína de unión a antígeno de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 23 en donde la proteína de unión a antígeno es para administrarse con metotrexato, de preferencia en donde la proteína de unión a antígeno se administra para el tratamiento de artritis reumatoide.

25.- Una proteína de unión a antígeno de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones precedentes que comprende un dominio variable de SEQ ID NO: 6 y/o SEQ ID NO: 3 o una variante de las mismas la cual contiene 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ó 10 sustituciones, inserciones o deleciones de aminoácido o comparte por lo menos 90% de identidad a través de la longitud de SEQ ID NO: 6 o SEQ ID NO: 3.

26.- Una proteína de unión a antígeno de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 24 que comprende la secuencia de la cadena pesada como la que se muestra en SEQ ID No 5, 9 ó 15 opcionalmente con una secuencia de la cadena ligera como la que se muestra en SEQ ID No: 2.

27.- Una proteína de unión a antígeno de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 24 que comprende una secuencia del dominio pesado variable como la que se muestra en SEQ ID NO: 78 u 80.

28.- Una proteína de unión a antígeno de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 24 que comprende una secuencia de la cadena pesada como la que se muestra en SEQ ID NO: 145 o SEQ ID NO: 146.

29.- Un método para tratar a un paciente que tiene una enfermedad, el método comprende administrar una proteína de unión a antígeno de conformidad con cualquier reivindicación precedente.

30.- Un método para tratar a un paciente que tiene una enfermedad, el método comprende administrar una proteína de unión a antígeno de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 28 al paciente por vía subcutánea como una dosis individual de aproximadamente 35 hasta aproximadamente 45 mg en un intervalo de cuatro a ocho semanas.

31.- Una proteína de unión a antígeno de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 7 a 10 o un método de conformidad con la reivindicación 29 ó 30 en donde la enfermedad es artritis reumatoide, artritis idiopática juvenil poliarticular, artritis psoriática, espondilitis anquilosante, enfermedad de Crohn o psoriasis.

32.- El uso de una proteína de unión a antígeno de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 28 para uso en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de artritis reumatoide , artritis idiopática juvenil poliarticular, artritis psoriática, espondilitis anquilosante, enfermedad de Crohn o psoriasis.

33.- Un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótido que codifica para la proteína de unión a antígeno de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 28.

34.- Una célula hospedera que comprende el ácido nucleico de conformidad con la reivindicación 33.

35.- Un kit que comprende la proteína de unión a antígeno de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 28, y opcionalmente comprende metotrexato para suministro concomitante de la proteína de unión a antígeno y metotrexato.

36.- Una formulación líquida que comprende una proteína de unión a antígeno de TNF-alfa y un amortiguador de acetato.

37.- La formulación de conformidad con la reivindicación 36, en donde la formulación no comprende a poliol.

38.- La formulación de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 36 ó 37, en donde la solución amortiguadora también comprende uno o más, una combinación de, o todos los siguientes: un agente tensoactivo; un quelante; una sal; y un aminoácido.

39.- La formulación de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 36 a 38, en donde la proteína de unión a antígeno de TNF-alfa está a una concentración de 20 a 300 mg/ml.

40.- La formulación de conformidad con cualquiera de las

reivindicaciones 36 a 39, en donde la formulación comprende:

(a) 10 a 100 mM de acetato de sodio trihidratado; y/o

(b) 25 a 100 mM cloruro de sodio; y/o

(c) 0.5 a 5% de base libre de arginina; y/o

(d) 0.02 a 0.2 mM de EDTA; y/o

(e) 0.01 a 0.1% de polisorbato 80,

y se ajusta a pH 5.0 a 7.0.

41.- La formulación de conformidad con la reivindicación 40, en donde:

(a) el acetato de sodio trihidratado está a una concentración de aproximadamente 50 mM; y/o

(b) el cloruro de sodio está a una concentración de aproximadamente 51 mM; y/o

(c) la base libre de arginina está a una concentración de aproximadamente 1%; y/o

(d) el EDTA está a una concentración de aproximadamente 0.05 mM; y/o

(e) el polisorbato 80 está a una concentración de aproximadamente 0.02%.

42.- La formulación de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 36 a 41, en donde el pH de la formulación se ajusta aproximadamente a pH 5.5.

43.- La formulación de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 36 a 42, en donde la proteína de unión a antígeno de TNF-alfa está a una concentración de 50 mg/ml.

44.- La formulación de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 36 a 43, en donde la formulación tiene un contenido de monómero de por lo menos 95%, o por lo menos 96%, o por lo menos 97%, o por lo menos 98%, o por lo menos 99% a temperatura ambiente (aproximadamente 25ºC) después de aproximadamente 1 semana.

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

Applicant's or agent's file reference	**FOR FURTHER ACTION**	see Form PCT/ISA/220 as well as, where applicable, item 5 below.
ALK/PB64705		
International application No.	International filing date *(day/month/year)*	(Earliest) Priority Date *(day/month/year)*
PCT/EP2012/064129	19/07/2012	19/07/2011
Applicant		
GLAXO GROUP LIMITED		

This international search report has been prepared by this International Searching Authority and is transmitted to the applicant according to Article 18. A copy is being transmitted to the International Bureau.

This international search report consists of a total of 10 sheets.

[X] It is also accompanied by a copy of each prior art document cited in this report.

1. **Basis of the report**
   a. With regard to the **language,** the international search was carried out on the basis of:
      [X] the international application in the language in which it was filed
      [ ] a translation of the international application into _____, which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1(b))
   b. [ ] This international search report has been established taking into account the **rectification of an obvious mistake** authorized by or notified to this Authority under Rule 91 (Rule 43.6*bis*(a)).
   c. [X] With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, see Box No. I.

2. [ ] **Certain claims were found unsearchable** (See Box No. II)

3. [X] **Unity of invention is lacking** (see Box No III)

4. With regard to the **title,**
   [ ] the text is approved as submitted by the applicant
   [X] the text has been established by this Authority to read as follows:

TNF-ALPHA ANTIGEN-BINDING PROTEINS WITH INCREASED FCRN BINDING

5. With regard to the **abstract,**
   [X] the text is approved as submitted by the applicant
   [ ] the text has been established, according to Rule 38.2, by this Authority as it appears in Box No. IV. The applicant may, within one month from the date of mailing of this international search report, submit comments to this Authority

6. With regard to the **drawings,**
   a. the figure of the **drawings** to be published with the abstract is Figure No. 6
      [ ] as suggested by the applicant
      [X] as selected by this Authority, because the applicant failed to suggest a figure
      [ ] as selected by this Authority, because this figure better characterizes the invention
   b. [ ] none of the figures is to be published with the abstract

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/EP2012/064129

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application and necessary to the claimed invention, the international search was carried out on the basis of:

   a. (means)

   ☐ on paper

   ☒ in electronic form

   b. (time)

   ☒ in the international application as filed

   ☐ together with the international application in electronic form

   ☐ subsequently to this Authority for the purpose of search

2. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing and/or table relating thereto has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/EP2012/064129

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

see additional sheet

1. ☒ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.

3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.

☒ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2012/064129

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. C07K16/24
ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
C07K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
EPO-Internal, BIOSIS, Sequence Search, EMBASE, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2009/163699 A1 (CHAMBERLAIN AARON KEITH [US] ET AL) 25 June 2009 (2009-06-25)	1-35
A	the whole document in particular abstract paragraphs [0014] - [0021], [0126] - [0132] claims 1-19; figures 1-23; examples 1-7; sequences 23, 24	36-44

-/--

[X] Further documents are listed in the continuation of Box C.

[X] See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
15 January 2013	25/01/2013

Name and mailing address of the ISA/	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Ferreira, Roger

4

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	PAUL R HINTON ET AL: "An engineered human IgG1 antibody with longer serum half-life", THE JOURNAL OF IMMUNOLOGY, THE AMERICAN ASSOCIATION OF IMMUNOLOGISTS, US, vol. 176, no. 1, 1 January 2006 (2006-01-01), pages 346-356, XP002484005, ISSN: 0022-1767 the whole document	1-44
A	HINTON PAUL R ET AL: "Engineered human IgG antibodies with longer serum half-lives in primates", JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, AMERICAN SOCIETY FOR BIOCHEMISTRY AND MOLECULAR BIOLOGY, US, vol. 279, no. 8, 20 February 2004 (2004-02-20), pages 6213-6216, XP002482523, ISSN: 0021-9258, DOI: 10.1074/JBC.C300470200 the whole document	1-44
A	A. DATTA-MANNAN ET AL: "Monoclonal Antibody Clearance: IMPACT OF MODULATING THE INTERACTION OF IgG WITH THE NEONATAL Fc RECEPTOR", JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, vol. 282, no. 3, 1 January 2007 (2007-01-01), pages 1709-1717, XP55043665, ISSN: 0021-9258, DOI: 10.1074/jbc.M607161200 the whole document	1-44
A	DATTA-MANNAN AMITA ET AL: "HUMANIZED IGG1 VARIANTS WITH DIFFERENTIAL BINDING PROPERTIES TO THE NEONATAL FC RECEPTOR: RELATIONSHIP TO PHARMACOKINETICS IN MICE AND PRIMATES", DRUG METABOLISM AND DISPOSITION, WILLIAMS AND WILKINS, BALTIMORE, MD, US, vol. 35, no. 1, 1 January 2007 (2007-01-01), pages 86-94, XP009077715, ISSN: 0090-9556, DOI: 10.1124/DMD.106.011734 the whole document	1-44

-/--

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	DALL'ACQUA W F ET AL: "Properties of human IgG1s engineered for enhanced binding to the neonatal Fc receptor (FcRn)", JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, AMERICAN SOCIETY FOR BIOCHEMISTRY AND MOLECULAR BIOLOGY, US, vol. 281, no. 33, 21 June 2006 (2006-06-21), pages 23514-23524, XP002404904, ISSN: 0021-9258, DOI: 10.1074/JBC.M604292200 the whole document	1-44
A	ROBERT L SHIELDS ET AL: "High resolution mapping of the binding site on human IgG1 for Fc gamma RI, Fc gamma RII, Fc gamma RIII and FcRn and design of IgG1 variants with improved binding to the Fc gamma R", JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, AMERICAN SOCIETY FOR BIOCHEMISTRY AND MOLECULAR BIOLOGY, US, vol. 276, no. 9, 2 March 2001 (2001-03-02) , pages 6591-6604, XP002638208, ISSN: 0021-9258, DOI: 10.1074/JBC.M009483200 [retrieved on 2000-11-28] cited in the application the whole document	1-44
A	WO 2010/097385 A1 (GLAXO GROUP LTD [GB]; HAMBLIN PAUL ANDREW [GB]; PARMAR RADHA SHAH [GB]) 2 September 2010 (2010-09-02) the whole document	1-44
A	WO 2010/136492 A2 (GLAXO GROUP LTD [GB]; ADAMSON PETER [GB]; ERTL PETER FRANZ [GB]; GERMA) 2 December 2010 (2010-12-02) the whole document	1-44
A	WO 2009/068649 A2 (GLAXO GROUP LTD [GB]; ASHMAN CLAIRE [GB]; BATUWANGALA THIL [GB]; BURDE) 4 June 2009 (2009-06-04) the whole document	1-44

-/--

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2010/102251 A2 (ABBOTT LAB [US]; HSIEH CHUNG-MING [US]; HUGUNIN MARGARET; MURTAZA ANWA) 10 September 2010 (2010-09-10)	36-44
A	the whole document in particular abstract page 3, line 1 - page 32, line 26 page 35, line 24 - page 36, line 26 page 84, line 23 - page 86, line 18 page 131, line 19 - page 132, line 5 claims 1-201; examples 1-6	1-35

X	WO 2008/057240 A2 (ABBOTT BIOTECH LTD [GB]; BORHANI DAVID W [US]; FRAUNHOFER WOLFGANG [US) 15 May 2008 (2008-05-15)	36-44
A	the whole document in particular abstract page 6, line 15 - page 13, line 20 page 19, line 14 - page 20, line 22 claims 1-41; figures 1-7; examples 1-47	1-35

X	WO 2009/073805 A2 (VERDEZYNE INC [US]; KITTLE JOSEPH D [US]) 11 June 2009 (2009-06-11)	36-44
A	the whole document in particular abstract paragraphs [0005] - [0029], [0102] claims 1-16; figures 1-18; examples 1-6	1-35

X	WO 2009/083246 A1 (BAYER SCHERING PHARMA AG [DE]; VOTSMEIER CHRISTIAN [DE]; GRITZAN UWE [) 9 July 2009 (2009-07-09)	36-44
A	the whole document in particular abstract paragraphs [0003] - [0009], [0075] claims 1-16; figures 1-34; examples	1-35

4

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/EP2012/064129

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2009163699 A1	25-06-2009	US 2009163699 A1	25-06-2009
		US 2010204454 A1	12-08-2010
		US 2010234571 A1	16-09-2010
		US 2010234572 A1	16-09-2010
		US 2010234573 A1	16-09-2010
		US 2010234574 A1	16-09-2010
		US 2010234575 A1	16-09-2010
		US 2011110928 A1	12-05-2011
		US 2012088905 A1	12-04-2012
WO 2010097385 A1	02-09-2010	CA 2753287 A1	02-09-2010
		EP 2401298 A1	04-01-2012
		JP 2012518398 A	16-08-2012
		US 2011305692 A1	15-12-2011
		WO 2010097385 A1	02-09-2010
WO 2010136492 A2	02-12-2010	AR 076796 A1	06-07-2011
		AU 2010251966 A1	22-12-2011
		CA 2763469 A1	02-12-2010
		CN 102458471 A	16-05-2012
		EA 201190273 A1	28-12-2012
		EP 2435075 A2	04-04-2012
		JP 2012528112 A	12-11-2012
		SG 176202 A1	29-12-2011
		TW 201106963 A	01-03-2011
		US 2012076787 A1	29-03-2012
		UY 32665 A	31-12-2010
		WO 2010136492 A2	02-12-2010
WO 2009068649 A2	04-06-2009	AR 069495 A1	27-01-2010
		AU 2008328726 A1	04-06-2009
		CA 2706419 A1	04-06-2009
		CN 101932608 A	29-12-2010
		CO 6280497 A2	20-05-2011
		DE 112008003232 T5	24-02-2011
		EA 201000704 A1	30-12-2010
		EP 2222709 A2	01-09-2010
		GB 2468232 A	01-09-2010
		JP 2011504742 A	17-02-2011
		KR 20100097720 A	03-09-2010
		MA 31940 B1	01-12-2010
		PE 12342009 A1	07-09-2009
		TW 200944231 A	01-11-2009
		US 2009148905 A1	11-06-2009
		US 2011008345 A1	13-01-2011
		UY 31504 A1	17-07-2009
		WO 2009068649 A2	04-06-2009
WO 2010102251 A2	10-09-2010	AR 075798 A1	27-04-2011
		AU 2010221166 A1	08-09-2011
		CA 2752648 A1	10-09-2010
		CN 102781470 A	14-11-2012
		CO 6410314 A2	30-03-2012
		DO P2011000274 A	31-10-2011
		EP 2403531 A2	11-01-2012
		JP 2012519708 A	30-08-2012
		KR 20110128909 A	30-11-2011
		PE 10942012 A1	13-09-2012

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/EP2012/064129

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
		SG 173705 A1	29-09-2011
		TW 201043241 A	16-12-2010
		US 2010266531 A1	21-10-2010
		UY 32477 A	30-06-2010
		WO 2010102251 A2	10-09-2010
WO 2008057240 A2	15-05-2008	AR 063429 A1	28-01-2009
		AU 2007318120 A1	15-05-2008
		CA 2667655 A1	15-05-2008
		CL 30942007 A1	16-05-2008
		CN 101616932 A	30-12-2009
		EP 2089428 A2	19-08-2009
		JP 2010507670 A	11-03-2010
		KR 20090101893 A	29-09-2009
		NZ 576133 A	26-10-2012
		PE 06632012 A1	01-06-2012
		PE 12582008 A1	04-09-2008
		RU 2009119988 A	10-12-2010
		SG 176427 A1	29-12-2011
		TW 200835699 A	01-09-2008
		US 2010034823 A1	11-02-2010
		US 2012251550 A1	04-10-2012
		UY 30662 A1	31-05-2008
		WO 2008057240 A2	15-05-2008
WO 2009073805 A2	11-06-2009	NONE	
WO 2009083246 A1	09-07-2009	CA 2710779 A1	09-07-2009
		EP 2225276 A1	08-09-2010
		JP 2011508597 A	17-03-2011
		US 2010297700 A1	25-11-2010
		WO 2009083246 A1	09-07-2009

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

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

1. claims: 1-35

Subject-matter of claims 1-35 which relates to an antigen binding protein (e.g. an antibody) which specifically binds to TNF-alpha comprising
(i) CDRH1 (SEQ ID No. 27), CDRH2 (SEQ ID No. 28), CDRH3 (SEQ ID No. 29), CDRL1 (SEQ ID No. 30), CDRL2 (SEQ ID No. 31) and CDRL3 (SEQ ID No 32) or a CDR variant thereof which contains 1, 2, 3 or 4 amino acid substitutions, insertions or deletions as compared to CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 or CDRL3 and
(ii) a neonatal Fc receptor (FcRn) binding portion of a human IgG1 constant domain comprising one of more amino acid substitutions relative to the human IgG1 constant domain, wherein the antigen binding protein has an increased FcRn binding affinity at pH 6 and/or increased half-life as compared to an IgG comprising the light chain (VL) sequence of SEQ ID No. 2 and the heavy chain (VH) sequence of SEQ ID No. 12.

---

2. claims: 36-44

Subject-matter of claims 36-44 which relates to a liquid formulation comprising a TNF-alpha antigen binding protein and an acetate buffer.

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

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

(21) No. de solicitud: (22) Fecha de solicitud: 21-01-14
(51) Clasificación Internacional: **C07K 16/24**

(71) Solicitante(s): **GLAXO GROUP LIMITED**

(72) Inventor(es): ELLIS, Jonathan, Henry; MOLLOY, Michael, J; SHAH, Tejash; TOMLINSON, Ian, M y YASIN, Ahmed.

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

(30) Prioridad	(31) ***No. Prioridad***	(32) ***Fecha***	(33) ***País***
	1112429.4	19-07-11	GB

(85) Fecha límite inicio fase nacional: 19-02-14
(86) Datos relativos a la presentación de la solic. PCT
Fecha de presentación de la solicitud: *19-07-12*
No. de solicitud: ***PCT/EP2012/064129***

(87) Publicación internacional:
Fecha: ***24-01-13***
No. Publicación: ***WO 2013/011076 A2***

(54) Titulo: PROTEINAS DE UNION A ANTIGENO DE TNF-ALFA CON UNION A FcRn INCREMENTADA.

(57) Resumen - Reivindicación(es):

Resumen.-

La presente invención provee proteínas de unión a antígeno que se unen específicamente a TNF-alfa. Por ejemplo variantes novedosas de anticuerpos anti-TNF, tal como adalimumab las cuales muestran unión incrementada al receptor FcRn o tiempo de vida media incrementado en comparación con adalimumab. También se proveen composiciones que comprenden las proteínas de unión a antígeno y los usos de dichas composiciones en el tratamiento de trastornos y enfermedad.

Sector: Química farmacéutica. Una proteína de unión a antígeno que se une específicamente a TNF-alfa.

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

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

(21) No. de solicitud: (22) Fecha de solicitud: 21-01-14
(51) Clasificación Internacional: **C07K 16/24**

(71) Solicitante(s): **GLAXO GROUP LIMITED**

(72) Inventor (es): ELLIS, Jonathan, Henry; MOLLOY, Michael, J; SHAH, Tejash; TOMLINSON, Ian, M y YASIN, Ahmed.

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

(30) Prioridad	(31) ***No. Prioridad***	(32) ***Fecha***	(33) ***País***
	1112429.4	19-07-11	GB

(85) Fecha límite inicio fase nacional: 19-02-14
(86) Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT
Fecha de presentación de la solicitud: *19-07-12*
No. de solicitud: ***PCT/EP2012/064129***

(87) Publicación internacional
Fecha: ***24-01-13***
No. publicación: ***WO 2013/011076 A2***

(54) Titulo: **PROTEINAS DE UNION A ANTIGENO DE TNF-ALFA CON UNION A FcRn INCREMENTADA.**