

Señor

Director de la Dirección de Nuevas Creaciones

Superintendencia de Industria y Comercio

Ministerio de Comercio, Industria y Turismo

E. S. D.

Re.: Expediente No. **NC2018/0005876**

Solicitud de Patente PCT entrada en Fase Nacional, para:

“INMUNOGLOBULINAS CONJUGADAS CON LISINA C-TERMINAL”

Solicitantes: **EISAI R&D MANAGEMENT CO., LTD.**

RESPUESTA A EXAMEN DE FONDO

Yo, **MARGARITA CASTELLANOS ABONDANO**, mayor de edad, identificada y domiciliada como aparece al pie de mi firma, obrando en mi calidad de apoderada de la sociedad solicitante del asunto citado en la referencia, en atención a su oficio No. 800 del 23 de enero de 2020, atentamente me permito dar respuesta al mismo de la siguiente

1. Modificación a las Reivindicaciones

De acuerdo con lo establecido en el Artículo 34 de la Decisión 486 y en vista de las observaciones realizadas por el examinador, se presenta en esta oportunidad un nuevo pliego reivindicatorio conformado por 79 reivindicaciones y se pone de presente lo siguiente:

- Se modificó la reivindicación 1 incluyendo las características técnicas de la reivindicación 2 y se modificó la reivindicación 39 incluyendo las características técnicas de la reivindicación 40.
- Las reivindicaciones 2 y 40 han sido eliminadas.
- Se modificó asimismo la reivindicación 33 para corregir la dependencia y para definir los residuos de aminoácidos que se incluyen en la pieza de cola que no está comprendida en las inmunoglobulinas IgA1, IgA2 o IgM. El sustento para la modificación de la reivindicación 33 se puede encontrar, por ejemplo, al menos en el párrafo [0093] de la memoria descriptiva tal como se presentó originalmente.

- Las reivindicaciones 3-6, 13, 20-22, 25-32, 34, 41-43, 57-59, 62-73, 75-77 y 80 se modificaron para corregir su numeración y dependencias.

2. Claridad de las reivindicaciones

2.1 Con respecto a las reivindicaciones 1 y 2

De acuerdo con el Examinador, las reivindicaciones 1 y 2 no son concisas ya que

se reclama de forma independiente un método para generar una inmunoglobulina conjugada. Adicionalmente, no se menciona el residuo de aminoácido que ocupa la posición adyacente a la lisina C-terminal, teniendo en cuenta que no hay evidencia de que cualquier residuo tenga un efecto. Por otra parte, no se menciona la posición de la lisina C-terminal. Se sugiere reclamar el método en una única reivindicación independiente, presentando las diferentes modalidades en reivindicaciones dependientes y definir la posición de la lisina y el residuo de aminoácido después de la lisina C-terminal.

Con respecto a la afirmación del Examinador de que las reivindicaciones 1 y 2 reivindican un método para generar una inmunoglobulina conjugada de forma independiente, se aclara que la materia de las reivindicaciones 1 y 2 se combinó en una única reivindicación 1 independiente y la reivindicación 2 ha sido eliminada. Así entonces, la objeción formulada a este respecto se debe tener por superada.

Con respecto a la observación del Examinador de que las reivindicaciones independientes "no mencionan el residuo de aminoácido adyacente a la lisina C-terminal, teniendo en cuenta de que no hay evidencia de que cualquier residuo tenga un efecto", se pone de presente que no es necesario especificar el residuo adyacente a la lisina C-terminal en la reivindicación 1 porque la memoria descriptiva del solicitante, en particular, los datos experimentales presentados en las Tablas 5, 6 y 8 proporcionan evidencia suficiente que demuestra la transaminación exitosa de la lisina C-terminal adyacente a muchos aminoácidos. Por ejemplo, los datos experimentales presentados en la Tabla 5 muestran un 100% de transamidación de la lisina C-terminal adyacente a los aminoácidos glicina, alanina, valina, leucina, isoleucina, metionina, fenilalanina, tirosina, triptófano, serina, treonina, asparagina, glutamina e histidina y un 91% de transamidación de la lisina C-terminal adyacente a la cisteína. La Tabla 5 también muestra niveles significativos de

transamidación de la lisina C-terminal ubicada junto a la prolina, al ácido aspártico y al ácido glutámico.

La Tabla 6 muestra que la lisina C-terminal también se transamida cuando está posicionada junto a los dos aminoácidos naturales restantes, lisina o arginina. Específicamente, la Tabla 6 muestra que se puede lograr el 100% de la transamidación cuando la lisina C-terminal se ubica junto a la lisina o a la arginina, seguida de un segundo aminoácido. La adición de un segundo aminoácido también aumenta los niveles de transamidación de la lisina C-terminal situada junto a la prolina de un 37,2% a un 61,3%. La Tabla 8 muestra asimismo la transamidación de la lisina C-terminal en varios isotipos de anticuerpos cuando está posicionada junto a la leucina o al ácido aspártico.

Sobre la base de la explicación anterior, queda claro que hay transamidación de la lisina C-terminal cuando está ubicada adyacente a cualquier aminoácido. Por consiguiente, la presente memoria descriptiva contiene evidencia suficiente de que cualquier aminoácido tiene el efecto y, por lo tanto, no es necesario limitar adicionalmente la reivindicación 1 para especificar el residuo de aminoácido adyacente a la lisina C-terminal.

Con respecto a la observación del Examinador de que "*no se menciona la posición de la lisina C-terminal*", vale la pena resaltar que no es necesario especificar la posición de la lisina C-terminal en la reivindicación 1 porque el término "lisina C-terminal" se define claramente en la memoria descriptiva tal como se presentó originalmente. Concretamente, el término "lisina C-terminal" se define en los párrafos [0090] - [0094] de la memoria descriptiva y se refiere al extremo C-terminal de la cadena pesada de una inmunoglobulina. Como se describe en el párrafo [0093] de la memoria descriptiva, la lisina C-terminal puede ser lisina 447 de IgG₁, IgG₂, IgG₃ o IgG₄; o puede ser la lisina C-terminal de IgD o IgE; o puede ser el último residuo de lisina antes de la pieza de cola de IgA₁, IgA₂ o IgM. Como se describe en el párrafo [0094] de la memoria descriptiva:

la lisina C-terminal puede estar presente, por ejemplo, en la posición de aminoácido 446 de una inmunoglobulina, si la inmunoglobulina ha sido mutada para eliminar las posiciones de aminoácido 446 y 447 de tipo salvaje.

Como también se describe en el párrafo [0094] de la memoria descriptiva,

se puede eliminar uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve o diez residuos de aminoácidos, por ejemplo, suprimirlos del extremo C-terminal de la cadena pesada de una inmunoglobulina, y se puede agregar un residuo lisina C-terminal, seguido por al menos un residuo de aminoácido adicional a la inmunoglobulina, por ejemplo, en las posiciones de aminoácido +1, +2, +3, +4, etc.

Teniendo en cuenta lo anterior, el solicitante afirma que el término "lisina C-terminal" está claramente definido en la memoria descriptiva tal como se presentó originalmente y no se

limita a la lisina C-terminal en la posición 447. Por lo tanto, no es necesario especificar la posición de la lisina C-terminal en la reivindicación 1.

2.2 Con respecto a la reivindicación 33

Se objetó la reivindicación 33 porque de acuerdo con el Examinador:

menciona que la inmunoglobulina es “una inmunoglobulina IgA1, IgA2 o IgM que no comprende una porción de cola”. Sin embargo, no es claro a qué residuos se refiere.

A este respecto, se pone de presente que la reivindicación 33 se modificó para definir los residuos de aminoácidos que se incluyen en la pieza de cola que no están incluidos en una IgA1, IgA2 o en la inmunoglobulina IgM, superando así la objeción formulada a este respecto.

2.3 Con respecto a las reivindicaciones 39 y 40

Se objetaron las reivindicaciones 39 y 40 porque de acuerdo con el Examinador no son concisas debido a que:

en ambas se reclama una inmunoglobulina conjugada. Se sugiere reclamar la materia en una única reivindicación independiente, presentando las diferentes modalidades en reivindicaciones dependientes y definir el residuo de aminoácido después de la lisina C-terminal.

En respuesta, se informa al Examinador que la materia de las reivindicaciones 39 y 40 se combinó en una única reivindicación independiente 38 y la reivindicación 40 ha sido eliminada del nuevo pliego reivindicatorio. Por lo tanto, la objeción formulada a este respecto se debe tener por superada.

2.4 Con respecto a la reivindicación 60

Se corrigió el error tipográfico señalado por el Examinador por lo que se supera la objeción.

3. Nivel inventivo

De acuerdo con el Examinador, las reivindicaciones 1-81 de la presente solicitud de patente carecen de nivel inventivo frente a las enseñanzas de los documentos WO2013/176515 (D1) y Groenen, P.J., Smulders, R. H., Peters, R. F., Grootjans, J.J., van den Ijssel, P. R., Bloemendal, H., de Jong, W. W. European Journal of Biochemistry (D2). A este respecto, se pone de presente que con las modificaciones realizadas al

pliego reivindicatorio y las siguientes aclaraciones, se debe tener por superada la objeción formulada a este respecto:

De acuerdo con el Examinador:

la persona normalmente versada en la materia estaría motivada a incluir la unión dependiente de residuos de lisina en la posición C-terminal mediada por las transglutaminasas del documento D2 en el método de D1, para así llegar al objeto de la reivindicación 1. Por lo cual se considera obvia.

Las reivindicaciones 2-81 no mencionan alguna característica que, junto con las características de la reivindicación independiente, aporte nivel inventivo al método de la reivindicación 1, por lo cual se considera que no tienen nivel inventivo.

En primer lugar, se hace notar al Examinador que las presentes reivindicaciones se refieren en general a métodos para generar una inmunoglobulina conjugada. Los métodos reivindicados utilizan una reacción catalizada por una **transglutaminasa microbiana** entre **una lisina C-terminal en una cadena pesada de la inmunoglobulina** y un residuo de glutamina comprendido en un sustrato donante de acilo, en donde la inmunoglobulina comprende **al menos un residuo de aminoácido después de la lisina C-terminal**. Las presentes reivindicaciones también se refieren en general a inmunoglobulinas conjugadas que comprenden una **lisina C-terminal conjugada con un residuo de glutamina** comprendido en un sustrato donante de acilo, en donde la inmunoglobulina comprende **al menos un residuo de aminoácido después de la lisina C-terminal**.

Como se describe en el párrafo [0010] de la memoria descriptiva tal como se presentó originalmente

si bien no se observó una modificación de lisinas de inmunoglobulina de tipo salvaje por la transglutaminasa microbiana, cuando se protegió un residuo de lisina C-terminal de una inmunoglobulina contra el clivaje por carboxipeptidasas usando una extensión de aminoácidos C-terminal, la transglutaminasa microbiana pudo utilizar la lisina C-terminal nativa como un aceptor de acilo. Sorprendentemente, la conjugación de la lisina C-terminal usando una transglutaminasa microbiana condujo a la incorporación específica del sitio y predecible de agentes funcionales conjugadas.

Por lo tanto, los inventores de la presente solicitud encontraron que **no se observó transglutaminación** de las lisinas expuestas a solventes en una inmunoglobulina que hizo reaccionar con transglutaminasa microbiana y un sustrato donante de acilo. Como se describe en el Ejemplo 2 de la memoria descriptiva presentada originalmente y como

se muestra en la Tabla 1, “Aunque hay 42-50 potenciales lisinas aceptoras de acilo en los diferentes anticuerpos, ni HC o LC fueron modificados por el sustrato donante de acilo” en los anticuerpos IgG estudiados (ver el Ejemplo 2, párrafo [0140]).

Los inventores encontraron asimismo que la reacción de transamidación eliminó la lisina C-terminal (por ejemplo, K447) de las inmunoglobulinas (ver el Ejemplo 2, párrafo [140]). Sin embargo, la adición de un péptido con dos sitios aceptores de acilo de lisinas conocidos (KTag) al extremo C-terminal de una inmunoglobulina, protegió la lisina C-terminal de la escisión y facilitó su transamidación con un sustrato donante de acilo (ver el Ejemplo 2, párrafo [0143]).

Además, los inventores de la presente solicitud hallaron de manera sorprendente que la adición de al menos un residuo de aminoácido en el extremo C-terminal de una inmunoglobulina protegió la lisina C-terminal de la escisión y dio como resultado su transamidación (ver el Ejemplo 3 59). La transamidación antes mencionada de la lisina C-terminal tras la adición de al menos un residuo de aminoácido en el extremo C-terminal se observó en varios isotipos de anticuerpos (ver el Ejemplo 4) y en varios sustratos donantes de acilo (ver el Ejemplo 5).

Por el contrario, el D1 enseña la preparación de conjugados de fármaco-anticuerpo “insertando artificialmente un residuo de glutamina en un sitio para producir un anticuerpo mutado y haciendo reaccionar un fármaco que tiene un grupo amina libre [sic] en presencia de una transglutaminasa para unir específicamente el fármaco a un residuo de glutamina en particular”. En los métodos que se divulgan en el D1, la glutamina insertada artificialmente en un anticuerpo actúa como un sustrato donante de acilo y el fármaco que tiene un grupo amino libre actúa como un aceptor de acilo.

Por lo tanto, a diferencia de la invención actualmente reivindicada, el D1 no enseña ni sugiere conjugar un residuo de lisina de un anticuerpo con un sustrato donante de acilo usando una transglutaminasa. En el D1, es el **residuo glutamina** comprendido en un anticuerpo el que se conjuga usando transglutaminasa, mientras que en la invención reivindicada actualmente es el **residuo lisina** comprendido en un anticuerpo el que se conjuga usando transglutaminasa. En el D1, el fármaco que contiene amina actúa como un aceptor donante de acilo, mientras que, en la presente invención reivindicada, es el residuo lisina comprendido en un anticuerpo el que actúa como un aceptor donante de acilo. En el D1, el residuo glutamina comprendido en un anticuerpo actúa como un sustrato donante de acilo, mientras que en la presente invención reivindicada el sustrato donante de acilo que contiene glutamina no es parte del anticuerpo.

Asimismo, el D1 no enseña ni sugiere una lisina C-terminal de una inmunoglobulina, mucho menos introducir al menos un residuo de aminoácido después de una lisina C-terminal en una inmunoglobulina.

El D2 enseña la transamidación de **mutantes de α A-cristalina**. Este documento divulga que una α A-cristalina de tipo salvaje "no funciona como un sustrato donante de amina para la transglutaminasa de tipo tisular" (ver el resumen). Asimismo, enseña que los mutantes de α A-cristalina que contienen un residuo lisina en una posición C-terminal o penúltima se transamidan en diferentes grados. El D2 explica que "la accesibilidad es el requisito principal para que un residuo lisina funcione como un sustrato donante de amina para la transglutaminasa" (ver el resumen).

Sin embargo, no enseña ni sugiere **una inmunoglobulina** o la transamidación de una inmunoglobulina. Tampoco enseña o sugiere la transamidación de una inmunoglobulina que comprende un residuo glutamina insertado artificialmente como enseña el D1. El D2 tampoco proporciona una razón o la motivación necesaria para que un experto en la materia conjugue un residuo lisina de una inmunoglobulina utilizando una transglutaminasa. Por lo tanto, un experto en la materia no tendría motivos para combinar las enseñanzas del D1 con las del D2, o para modificar el método del D1 para conjugar un residuo lisina en una inmunoglobulina.

Por otro lado, incluso en el caso poco probable de que un experto en la materia decida combinar las enseñanzas del D1 y el D2 e intente conjugar un residuo lisina presente en una inmunoglobulina con un sustrato donante de acilo usando transglutaminasa (lo cual es absolutamente discutible para el solicitante), no produciría una inmunoglobulina conjugada y, por lo tanto, no llegaría a la invención reivindicada actualmente. De hecho, sobre la base de los datos experimentales presentados en el Ejemplo 2 de la presente memoria descriptiva, es evidente que **no se observó transglutaminación en lisinas expuestas a solventes en una inmunoglobulina que se hizo reaccionar con una transglutaminasa microbiana**. En efecto, como se describe en el Ejemplo 2, **ninguna** de las lisinas expuestas al solvente en seis inmunoglobulinas diferentes analizadas se transamidó. Además, la lisina C-terminal no se transamidó porque se escindió de la inmunoglobulina durante la reacción de transamidación. Solamente cuando la lisina C-terminal quedó protegida de la escisión al incluir al menos un aminoácido adicional en el extremo C-terminal de la inmunoglobulina, la lisina C-terminal se transamidó.

Los resultados experimentales descritos anteriormente con inmunoglobulinas no pudieron ser previstos ni predichos por un experto en la materia basado en las enseñanzas combinadas del D1 y el D2. Esto se debe a que el D1 no enseña ni sugiere

la transamidación de lisinas presentes en una inmunoglobulina y a que el D2 no enseña ni sugiere inmunoglobulinas, y mucho menos la transamidación de inmunoglobulinas. Se debe asimismo a que el D2 enseña que cualquier lisina expuesta al solvente en un **mutante de α A-cristalina** se transamidaría, lo cual claramente no ocurre con las **inmunoglobulinas**. Por lo tanto, la persona avezada en la materia no tendría la razón ni la motivación necesaria para transamidar un residuo lisina en una inmunoglobulina ni tampoco tendría una expectativa razonable de éxito de transamidar una inmunoglobulina en vista del D1 y el D2.

Así entonces, teniendo en cuenta los anteriores argumentos, es claro que la materia de invención recitada en el nuevo pliego reivindicatorio es obvia ni evidente en vista de las enseñanzas del D1 y el D2, solos o combinados, y en consecuencia, la objeción formulada a este respecto se debe tener por superada.

Por lo tanto, es posible afirmar que la presente solicitud cumple con el requerimiento establecido en el Artículo 18 de la Decisión 486.

4. Conclusión

Teniendo en cuenta las modificaciones introducidas en esta oportunidad y los argumentos que se presentan, es posible establecer que las reivindicaciones del nuevo pliego reivindicatorio cumplen con los requerimientos de la Decisión 486.

5. Anexos

- Nuevo pliego reivindicatorio conformado por 79 reivindicaciones.

Señor Director,



Margarita Castellanos Abondano

C.C. No. **39.779.654** de Bogotá

T.P.A. No. **70.819** del C.S.J.

Calle 117 No. 5A-35 - Bogotá, D.C.

Teléfono: 7560770

Bogotá, D.C.

MCA/mg

P4896

REIVINDICACIONES

1. Un método para generar una inmunoglobulina conjugada, en donde dicho método comprende:

A) incubar una inmunoglobulina con una transglutaminasa microbiana y un agente funcional que comprende un sustrato donante de acilo,

a) en donde la inmunoglobulina comprende por lo menos un residuo de aminoácido después de una lisina C-terminal,

b) en donde el sustrato donante de acilo comprende un residuo glutamina y

c) en donde el agente funcional es un agente terapéutico o un agente de diagnóstico, en donde la transglutaminasa microbiana conjuga la lisina C-terminal de la inmunoglobulina con el residuo glutamina del sustrato donante de acilo en el agente funcional, generando de esa manera la inmunoglobulina conjugada; o.

B) i) incubar una inmunoglobulina con una transglutaminasa microbiana y un sustrato donante de acilo,

a) en donde la inmunoglobulina comprende por lo menos un residuo de aminoácido después de una lisina C-terminal, y

b) en donde el sustrato donante de acilo comprende un residuo glutamina y un grupo reactivo,

en donde la transglutaminasa microbiana conjuga la lisina C-terminal de la inmunoglobulina con el residuo glutamina del sustrato donante de acilo, y

ii) conjugar un agente funcional con el grupo reactivo del sustrato donante de acilo, en donde el agente funcional es un agente terapéutico o un agente de diagnóstico, generando de esa manera la inmunoglobulina conjugada.

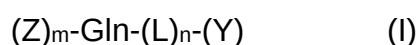
2. El método de la reivindicación 1, en donde el grupo reactivo del sustrato donante de acilo se conjuga con el agente funcional mediante una química click.

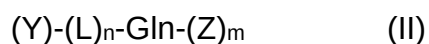
3. El método de la reivindicación 1, en donde la lisina C-terminal es la Lisina 447 (K447) en una cadena pesada de la inmunoglobulina.

4. El método de la reivindicación 1, en donde la inmunoglobulina comprende un residuo de aminoácido después de la lisina C-terminal, y dicho un residuo de aminoácido después de la lisina C-terminal es glicina, alanina, valina, leucina, isoleucina, metionina, fenilalanina, tirosina, triptofano, serina, treonina, cisteína, asparagina, glutamina o histidina.

5. El método de la reivindicación 1, en donde la inmunoglobulina comprende un residuo de aminoácido después de la lisina C-terminal, y en donde dicho un residuo de aminoácido después de la lisina C-terminal no comprende prolina, ácido aspártico, ácido glutámico, lisina o arginina.

6. El método de la reivindicación 1, en donde el agente funcional que comprende el sustrato donante de acilo es acorde con la Fórmula (I) o (II):





en donde

Z es un grupo carboxilbenciloxi (CBZ) o un residuo de aminoácido;

Gln es un residuo de aminoácido glutamina;

cada L es de manera independiente un conector de cadena lineal o ramificada de entre 1 y 20 átomos de carbono, en donde uno o más de los átomos de carbono se puede reemplazar de manera opcional e independiente con un átomo de nitrógeno, oxígeno o azufre, y en donde cada átomo de carbono y de nitrógeno se puede sustituir opcionalmente; o cada L es de manera opcional e independiente un residuo de aminoácido;

n es un número entero de entre 0 y 5;

m es un número entero de entre 0 y 5; y

Y es un agente funcional.

7. El método de la reivindicación 6, en donde el agente funcional que comprende el sustrato donante de acilo es acorde con la fórmula (I), y en donde Z es un grupo CBZ; en donde cada L es de manera independiente una unidad de polietilenglicol (PEG) (-O((CH₂)₂)-), etilamina (-NH((CH₂)₂)-) o propilamina (-NH((CH₂)₃)-); y en donde n es 0, 1, 2, 3, 4 ó 5.

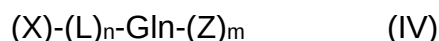
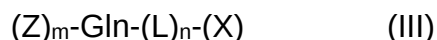
8. El método de la reivindicación 6, en donde el agente funcional que comprende el sustrato donante de acilo es acorde con la fórmula (I), en donde Z es un grupo CBZ y L es un aminoácido.

9. El método de la reivindicación 8, en donde L es Gly; m es 1; y n es 0.

10. El método de la reivindicación 8, en donde L es Gly; m es 1; y n es 1.

11. El método de la reivindicación 6, en donde el agente funcional que comprende el sustrato donante de acilo es acorde con la fórmula (II), en donde Z es un grupo CBZ; m es 1; n es 1, 2 ó 3; y por lo menos un L es Gly.

12. El método de la reivindicación 1, en donde el sustrato donante de acilo es acorde con la Fórmula (III) o (IV):



en donde

Z es un grupo carboxilbenciloxi (CBZ) o un residuo de aminoácido;

Gln es un residuo de aminoácido glutamina;

cada L es de manera independiente un conector de cadena lineal o ramificada de entre 1 y 20 átomos de carbono, en donde uno o más de los átomos de carbono se puede reemplazar de manera opcional e independiente con un átomo de nitrógeno, oxígeno o azufre, y en donde cada átomo de carbono y de nitrógeno se puede sustituir opcionalmente; o cada L es de manera opcional e independiente un residuo de aminoácido;

n es un número entero de entre 0 y 5;
n es un número entero de entre 0 y 5; y
X es un grupo reactivo.

13. El método de la reivindicación 12, en donde el sustrato donante de acilo es acorde con la fórmula (III), y en donde Z es un grupo CBZ; en donde cada L es de manera independiente una unidad de polietilenglicol (PEG) (-O((CH₂)₂)-), etilamina (-NH((CH₂)₂)-) o propilamina (-NH((CH₂)₃)-); y en donde n es 0, 1, 2, 3, 4 ó 5.

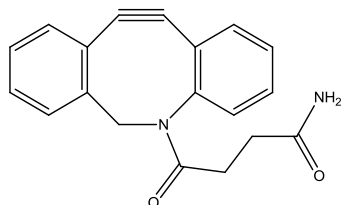
14. El método de la reivindicación 12, en donde el sustrato donante de acilo es acorde con la fórmula (III), en donde Z es un grupo CBZ y en donde uno o más L es un aminoácido.

15. El método de la reivindicación 14, en donde L es Gly; m es 1; y n es 1.

16. El método de la reivindicación 14, en donde m es 1; y n es 0.

17. El método de la reivindicación 12, en donde el sustrato donante de acilo es acorde con la fórmula (IV), en donde Z es un grupo CBZ; m es 1; n es 1, 2 ó 3; y por lo menos un L es Gly.

18. El método de la reivindicación 12, en donde X es un grupo reactivo seleccionado del grupo que consiste en (1R,8S,9s)-biciclo[6,1,0]non-4-in-9-ilmetanol (BCN),



(DBCO), trans-cicloocteno (TCO), azido (N₃), alquino, tetrazinmetilciclopropeno, norborneno, hidrazida/hidrazina y aldehído.

19. El método de la reivindicación 1, en donde el agente terapéutico es un anticuerpo o una porción de unión al antígeno del mismo, un agente quimioterapéutico, un agente farmacéutico, un agente radioactivo, un agente citotóxico, un antibiótico, una molécula pequeña, un ácido nucleico o un polipéptido.

20. El método de la reivindicación 1, en donde el agente de diagnóstico es un fluoróforo, un colorante fluorescente, un radionúclido o una enzima.

21. El método de la reivindicación 1, en donde la inmunoglobulina tiene dos residuos de aminoácidos después de la lisina C-terminal, que comprenden un primer residuo de aminoácido después de la lisina C-terminal y un segundo residuo de aminoácido después de la lisina C-terminal.

22. El método de la reivindicación 21, en donde el primer residuo de aminoácido después de la lisina C-terminal es cualquier residuo de aminoácido excepto ácido aspártico, ácido glutámico o prolina; y en donde el segundo residuo de aminoácido después de la lisina C-terminal se selecciona del grupo que consiste en fenilalanina, leucina, isoleucina, metionina, valina, serina, prolina, treonina, alanina, tirosina, histidina, glutamina, asparagina, ácido aspártico, ácido glutámico, cisteína, triptofano y glicina.

23. El método de la reivindicación 22, en donde el primer residuo de aminoácido después de la lisina C-terminal es lisina o arginina.

24. El método de la reivindicación 1, en donde la inmunoglobulina tiene tres residuos de aminoácidos después de la lisina C-terminal, que comprenden un primer residuo de aminoácido después de la lisina C-terminal, un segundo residuo de aminoácido después de la lisina C-terminal y un tercer residuo de aminoácido después de la lisina C-terminal, en donde el tercer residuo de aminoácido después de la lisina C-terminal se selecciona del grupo que consiste en fenilalanina, leucina, isoleucina, metionina, valina, serina, prolina, treonina, alanina, tirosina, histidina, glutamina, asparagina, ácido aspártico, ácido glutámico, cisteína, triptofano y glicina.

25. El método de la reivindicación 1, en donde la inmunoglobulina tiene cuatro residuos de aminoácidos después de la lisina C-terminal, que comprenden un primer residuo de aminoácido después de la lisina C-terminal, un segundo residuo de aminoácido después de la lisina C-terminal, un tercer residuo de aminoácido después de la lisina C-terminal y un cuarto residuo de aminoácido después de la lisina C-terminal, en donde el cuarto residuo de aminoácido después de la lisina C-terminal se selecciona del grupo que consiste en fenilalanina, leucina, isoleucina, metionina, valina, serina, prolina, treonina, alanina, tirosina, histidina, glutamina, asparagina, ácido aspártico, ácido glutámico, cisteína, triptofano y glicina.

26. El método de la reivindicación 1, en donde la inmunoglobulina tiene cinco residuos de aminoácidos después de la lisina C-terminal, que comprenden un primer residuo de aminoácido después de la lisina C-terminal, un segundo residuo de aminoácido después de la lisina C-terminal, un tercer residuo de aminoácido después de la lisina C-terminal, un cuarto residuo de aminoácido después de la lisina C-terminal y un quinto residuo de aminoácido después de la lisina C-terminal, en donde el quinto residuo de aminoácido después de la lisina C-terminal se selecciona del grupo que consiste en fenilalanina, leucina, isoleucina, metionina, valina, serina, prolina, treonina, alanina, tirosina, histidina, glutamina, asparagina, ácido aspártico, ácido glutámico, cisteína, triptofano y glicina.

27. El método de la reivindicación 1, en donde la inmunoglobulina tiene menos de 9 residuos de aminoácidos después de la lisina C-terminal, y en donde el último residuo de aminoácido después de la lisina C-terminal se selecciona del grupo que consiste en

fenilalanina, leucina, isoleucina, metionina, valina, serina, prolina, treonina, alanina, tirosina, histidina, glutamina, asparagina, ácido aspártico, ácido glutámico, cisteína, triptofano y glicina.

28. El método de la reivindicación 1, en donde la inmunoglobulina tiene menos de 13 residuos de aminoácidos después de la lisina C-terminal, y en donde el último residuo de aminoácido después de la lisina C-terminal se selecciona del grupo que consiste en fenilalanina, leucina, isoleucina, metionina, valina, serina, prolina, treonina, alanina, tirosina, histidina, glutamina, asparagina, ácido aspártico, ácido glutámico, cisteína, triptofano y glicina.

29. El método de la reivindicación 1, en donde la transglutaminasa microbiana es una transglutaminasa microbiana de *Streptomyces mobarensis*.

30. El método de la reivindicación 1, en donde la inmunoglobulina es una inmunoglobulina IgG₁.

31. El método de la reivindicación 1, en donde la inmunoglobulina es una inmunoglobulina IgG₂, IgG₃ o IgG₄.

32. El método de la reivindicación 1 2, en donde la inmunoglobulina es una inmunoglobulina IgA₁, una IgA₂ o una IgM que no comprende una porción de cola, en donde:

la secuencia de aminoácidos de una porción de cola de IgA₁ es PTHVNVSVVMAEVDGTCY

la secuencia de aminoácidos de una porción de cola de IgA₂ es PTHVNVSVVMAEVDGTCY

la secuencia de aminoácidos de una porción de cola de IgM es PTLYNVSLVMSDTAGTCY.

33. El método de la reivindicación 1, en donde la inmunoglobulina es una inmunoglobulina IgD o IgE.

34. El método de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde la inmunoglobulina es una inmunoglobulina humana o una inmunoglobulina humanizada.

35. El método de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde la inmunoglobulina es una inmunoglobulina quimérica o una inmunoglobulina no humana.

36. El método de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde la inmunoglobulina comprende dos cadenas pesadas y dos cadenas livianas.

37. El método de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde la

relación de agente funcional a inmunoglobulina es de entre 1:1 y 2:1.

38. Una inmunoglobulina conjugada que comprende una inmunoglobulina y un agente funcional, en donde

A)

a) la inmunoglobulina comprende por lo menos un residuo de aminoácido después de una lisina C-terminal,

b) el agente funcional comprende un sustrato donante de acilo, en donde el sustrato donante de acilo comprende un residuo glutamina, y

c) el agente funcional es un agente terapéutico o un agente de diagnóstico, en donde la lisina C-terminal de la inmunoglobulina se conjuga con el residuo glutamina del sustrato donante de acilo del agente funcional; o

B)

a) la inmunoglobulina comprende por lo menos un residuo de aminoácido después de una lisina C-terminal,

b) la lisina C-terminal se conjuga con un residuo glutamina en un sustrato donante de acilo, en donde el sustrato donante de acilo además comprende un grupo reactivo, y

c) el grupo reactivo se conjuga con un agente funcional, en donde el agente funcional es un agente terapéutico o un agente de diagnóstico.

39. La inmunoglobulina conjugada de la reivindicación 38, en donde la lisina C-terminal es la Lisina 447 (K447) en una cadena pesada de la inmunoglobulina.

40. La inmunoglobulina conjugada de la reivindicación 38, en donde la inmunoglobulina comprende un residuo de aminoácido después de la lisina C-terminal, y en donde dicho un residuo de aminoácido después de la lisina C-terminal es glicina, alanina, valina, leucina, isoleucina, metionina, fenilalanina, tirosina, triptofano, serina, treonina, cisteína, asparagina, glutamina o histidina.

41. La inmunoglobulina conjugada de la reivindicación 38, en donde la inmunoglobulina comprende un residuo de aminoácido después de la lisina C-terminal, y en donde dicho un residuo de aminoácido después de la lisina C-terminal no es prolina, ácido aspártico, ácido glutámico, lisina o arginina.

42. La inmunoglobulina conjugada de la reivindicación 38, en donde el agente funcional que comprende el sustrato donante de acilo es acorde con la Fórmula (I) o (II):

$(Z)_m\text{-Gln-(L)}_n\text{-(Y)}$ (I)

$(Y)\text{-(L)}_n\text{-Gln-(Z)}_m$ (II)

en donde

Z es un grupo carboxilbenciloxi (CBZ) o un residuo de aminoácido;

Gln es un residuo de aminoácido glutamina;

cada L es de manera independiente un conector de cadena lineal o ramificada de

entre 1 y 20 átomos de carbono, en donde uno o más de los átomos de carbono se puede reemplazar de manera opcional e independiente con un átomo de nitrógeno, oxígeno o azufre, y en donde cada átomo de carbono y de nitrógeno se puede sustituir opcionalmente; o cada L es de manera opcional e independiente un residuo de aminoácido;

n es un número entero de entre 0 y 5;

n es un número entero de entre 0 y 5; y

Y es un agente funcional.

43. La inmunoglobulina conjugada de la reivindicación 42, en donde el agente funcional que comprende el sustrato donante de acilo es acorde con la fórmula (I), y en donde Z es un grupo CBZ; en donde L es una unidad de polietilenglicol (PEG) (-O((CH₂)₂)-), etilamina (-NH((CH₂)₂)-) o propilamina (-NH((CH₂)₃)-); y en donde n es 0, 1, 2, 3, 4 ó 5.

44. La inmunoglobulina conjugada de la reivindicación 42, en donde el agente funcional que comprende el sustrato donante de acilo es acorde con la fórmula (I), en donde Z es un grupo CBZ y en donde L es un aminoácido.

45. La inmunoglobulina conjugada de la reivindicación 44, en donde m es 1; y n es 0.

46. La inmunoglobulina conjugada de la reivindicación 44, en donde L es Gly; m es 1; y n es 1.

47. La inmunoglobulina conjugada de la reivindicación 42, en donde el agente funcional que comprende el sustrato donante de acilo es acorde con la fórmula (II), en donde Z es un grupo CBZ; m es 1; n es 1, 2 ó 3; y por lo menos un L es Gly.

48. La inmunoglobulina conjugada de la reivindicación 38, en donde el sustrato donante de acilo es acorde con la Fórmula (III) o (IV):

(Z)_m-Gln-(L)_n-(X) (III)

(X)-(L)_n-Gln-(Z)_m (IV)

en donde

Z es un grupo carboxilbenciloxi (CBZ) o un residuo de aminoácido;

Gln es un residuo de aminoácido glutamina;

cada L es de manera independiente un conector de cadena lineal o ramificada de entre 1 y 20 átomos de carbono, en donde uno o más de los átomos de carbono se puede reemplazar de manera opcional e independiente con un átomo de nitrógeno, oxígeno o azufre, y en donde cada átomo de carbono y de nitrógeno se puede sustituir opcionalmente; o cada L es de manera opcional e independiente un residuo de aminoácido;

n es un número entero de entre 0 y 5;

n es un número entero de entre 0 y 5; y

X es un grupo reactivo.

49. La inmunoglobulina conjugada de la reivindicación 48, en donde el sustrato donante de acilo es acorde con la fórmula (III), y en donde Z es un grupo CBZ; en donde cada L es de manera independiente una unidad de polietilenglicol (PEG) $(-O((CH_2)_2)-)$, etilamina $(-NH((CH_2)_2)-)$ o propilamina $(-NH((CH_2)_3)-)$; y en donde n es 0, 1, 2, 3, 4 ó 5.

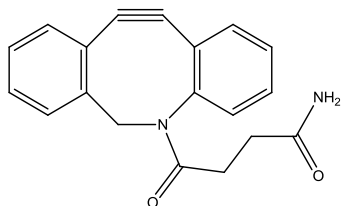
50. La inmunoglobulina conjugada de la reivindicación 48, en donde el sustrato donante de acilo es acorde con la fórmula (III), en donde Z es un grupo CBZ y en donde L es un aminoácido.

51. La inmunoglobulina conjugada de la reivindicación 50, en donde m es 1; y n es 0.

52. La inmunoglobulina conjugada de la reivindicación 50, en donde L es Gly; m es 1; y n es 1.

53. La inmunoglobulina conjugada de la reivindicación 48, en donde el sustrato donante de acilo es acorde con la fórmula (IV), en donde Z es un grupo CBZ; m es 1; n es 1, 2 ó 3; y por lo menos un L es Gly.

54. La inmunoglobulina conjugada de la reivindicación 48, en donde X es un grupo reactivo seleccionado del grupo que consiste en (1R,8S,9s)-biciclo[6,1,0]non-4-in-9-ilmetanol



(BCN), (DBCO), trans-cicloocteno (TCO), azido (N_3), alquino, tetrazinmetilciclopropeno, norborneno, hidrazida/hidrazina y aldehído.

55. La inmunoglobulina conjugada de la reivindicación 38, en donde el agente terapéutico es un anticuerpo o una porción de unión al antígeno del mismo, un agente quimioterapéutico, un agente farmacéutico, un agente radioactivo, un agente citotóxico, un antibiótico, una molécula pequeña, ácido nucleico o un polipéptido.

56. La inmunoglobulina conjugada de la reivindicación 38, en donde el agente de diagnóstico es un fluoróforo, un colorante fluorescente, un radionúclido o una enzima.

57. La inmunoglobulina conjugada de la reivindicación 38, en donde la inmunoglobulina tiene dos residuos de aminoácidos después de la lisina C-terminal, que comprenden un primer residuo de aminoácido después de la lisina C-terminal y un segundo residuo de aminoácido después de la lisina C-terminal.

58. La inmunoglobulina conjugada de la reivindicación 57, en donde el primer

residuo de aminoácido después de la lisina C-terminal es cualquier residuo de aminoácido excepto ácido aspártico, ácido glutámico o prolina; y en donde el segundo residuo de aminoácido después de la lisina C-terminal se selecciona del grupo que consiste en fenilalanina, leucina, isoleucina, metionina, valina, serina, prolina, treonina, alanina, tirosina, histidina, glutamina, asparagina, ácido aspártico, ácido glutámico, cisteína, triptofano y glicina.

59. La inmunoglobulina conjugada de la reivindicación 58, en donde el primer residuo de aminoácido después de la lisina C-terminal es lisina o arginina.

60. La inmunoglobulina conjugada de la reivindicación 38, en donde la inmunoglobulina tiene tres residuos de aminoácidos después de la lisina C-terminal, que comprenden un primer residuo de aminoácido después de la lisina C-terminal, un segundo residuo de aminoácido después de la lisina C-terminal y un tercer residuo de aminoácido después de la lisina C-terminal, en donde el tercer residuo de aminoácido después de la lisina C-terminal se selecciona del grupo que consiste en fenilalanina, leucina, isoleucina, metionina, valina, serina, prolina, treonina, alanina, tirosina, histidina, glutamina, asparagina, ácido aspártico, ácido glutámico, cisteína, triptofano y glicina.

61. La inmunoglobulina conjugada de la reivindicación 38, en donde la inmunoglobulina tiene cuatro residuos de aminoácidos después de la lisina C-terminal, que comprenden un primer residuo de aminoácido después de la lisina C-terminal, un segundo residuo de aminoácido después de la lisina C-terminal, un tercer residuo de aminoácido después de la lisina C-terminal y un cuarto residuo de aminoácido después de la lisina C-terminal, en donde el cuarto residuo de aminoácido después de la lisina C-terminal se selecciona del grupo que consiste en fenilalanina, leucina, isoleucina, metionina, valina, serina, prolina, treonina, alanina, tirosina, histidina, glutamina, asparagina, ácido aspártico, ácido glutámico, cisteína, triptofano y glicina.

62. La inmunoglobulina conjugada de la reivindicación 38, en donde la inmunoglobulina tiene cinco residuos de aminoácidos después de la lisina C-terminal, que comprenden un primer residuo de aminoácido después de la lisina C-terminal, un segundo residuo de aminoácido después de la lisina C-terminal, un tercer residuo de aminoácido después de la lisina C-terminal, un cuarto residuo de aminoácido después de la lisina C-terminal y un quinto residuo de aminoácido después de la lisina C-terminal, en donde el quinto residuo de aminoácido después de la lisina C-terminal se selecciona del grupo que consiste en fenilalanina, leucina, isoleucina, metionina, valina, serina, prolina, treonina, alanina, tirosina, histidina, glutamina, asparagina, ácido aspártico, ácido glutámico, cisteína, triptofano y glicina.

63. La inmunoglobulina conjugada de la reivindicación 38, en donde la inmunoglobulina tiene menos de 9 residuos de aminoácidos después de la lisina C-terminal,

y en donde el último residuo de aminoácido después de la lisina C-terminal se selecciona del grupo que consiste en fenilalanina, leucina, isoleucina, metionina, valina, serina, prolina, treonina, alanina, tirosina, histidina, glutamina, asparagina, ácido aspártico, ácido glutámico, cisteína, triptofano y glicina.

64. La inmunoglobulina conjugada de la reivindicación 38, en donde la inmunoglobulina tiene menos de 13 residuos de aminoácidos después de la lisina C-terminal, y en donde el último residuo de aminoácido después de la lisina C-terminal se selecciona del grupo que consiste en fenilalanina, leucina, isoleucina, metionina, valina, serina, prolina, treonina, alanina, tirosina, histidina, glutamina, asparagina, ácido aspártico, ácido glutámico, cisteína, triptofano y glicina.

65. La inmunoglobulina conjugada de la reivindicación 38, en donde la inmunoglobulina es una inmunoglobulina IgG₁.

66. La inmunoglobulina conjugada de la reivindicación 38, en donde la inmunoglobulina es una inmunoglobulina IgG₂, IgG₃ o IgG₄.

67. La inmunoglobulina conjugada de la reivindicación 38, en donde la inmunoglobulina es una inmunoglobulina IgA₁, una IgA₂ o una IgM.

68. La inmunoglobulina conjugada de la reivindicación 38, en donde la inmunoglobulina es una inmunoglobulina IgD o IgE.

69. La inmunoglobulina conjugada de la reivindicación 38, en donde la inmunoglobulina es una inmunoglobulina humana o una inmunoglobulina humanizada.

70. La inmunoglobulina conjugada de la reivindicación 38, en donde la inmunoglobulina es una inmunoglobulina quimérica o una inmunoglobulina no humana.

71. La inmunoglobulina conjugada de la reivindicación 38, en donde la inmunoglobulina comprende dos cadenas pesadas y dos cadenas livianas.

72. La inmunoglobulina conjugada de la reivindicación 71, en donde no hay entrecruzamiento intramolecular entre las dos cadenas pesadas de la inmunoglobulina.

73. La inmunoglobulina conjugada de la reivindicación 38, en donde la relación de agente funcional a inmunoglobulina es de entre 1:1 y 2:1.

74. La inmunoglobulina conjugada de la reivindicación 38, en donde el agente funcional es un anticuerpo, o una porción de unión al antígeno del mismo, y en donde la inmunoglobulina y el agente funcional se unen al mismo antígeno o se unen a antígenos diferentes.

75. Un ácido nucleico, que codifica la inmunoglobulina conjugada de cualquiera de las reivindicaciones 38-74.

76. Un vector, que comprende el ácido nucleico de la reivindicación 75.

77. Una célula aislada, que comprende el plásmido de la reivindicación 76.

78. Una composición farmacéutica, que comprende la inmunoglobulina conjugada de cualquiera de las reivindicaciones 38-74, y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

79. Una inmunoglobulina conjugada, que fue producida mediante el método de cualquiera de las reivindicaciones 1-37.