

REIVINDICACIONES

1. Un método para generar una inmunoglobulina conjugada, CARACTERIZADO PORQUE dicho método comprende:

poner una inmunoglobulina, o una porción de unión al antígeno de esta, en contacto con una transglutaminasa microbiana y un sustrato donante de acilo,

a) en donde la inmunoglobulina, o una porción de unión al antígeno de esta, comprende un residuo lisina modificado, en donde el residuo lisina modificado es un residuo de aminoácido natural que se ha mutado en un residuo lisina,

en donde el residuo de aminoácido natural que ha sido mutado a un residuo de lisina se selecciona del grupo que consiste en:

Treonina 135 (T135K), Serina 136 (S136K), Leucina 193 (L193K), Ácido aspártico 221 (D221K), Treonina 223 (T223K), Histidina 224 (H224K), Treonina 225 (T225K), Metionina 252 (M252K), Asparagina 297 (N297K) y Prolina 445 (P445K) en una región constante de una cadena pesada de la inmunoglobulina, o una porción de unión al antígeno de esta,

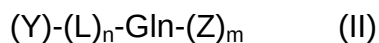
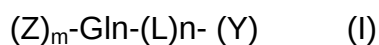
Leucina 201 (L201K) y Serina 202 (S202K) en una región constante kappa de una cadena liviana de la inmunoglobulina, o una porción de unión al antígeno de esta, y

Ácido glutámico 213 (E213K) en una región constante lambda de una cadena liviana de la inmunoglobulina, o una porción de unión al antígeno de esta,

en donde los residuos de aminoácidos se numeran según el sistema de numeración de la UE;

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

en donde el sustrato donante de acilo es de acuerdo con una de las fórmulas (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 independientemente un conector lineal o ramificado de 1 a 20 átomos de carbono, en donde uno o más de los átomos de carbono pueden estar opcional e independientemente reemplazados por un átomo de nitrógeno, oxígeno o azufre, y en donde cada átomo de carbono y nitrógeno puede estar opcionalmente sustituido; o cada L es opcional e independientemente un residuo de aminoácido;

m es un número entero de 0 a 5;

n es un número entereo de 0 a 5; e

Y es un agente terapéutico o un agente de diagnóstico,

en donde la transglutaminasa microbiana conjuga el residuo lisina modificado de la inmunoglobulina, o una porción de unión al antígeno de esta, con el residuo glutamina del sustrato donante de acilo sobre el agente funcional, generando de esa manera la inmunoglobulina conjugada.

2. Un método para generar una inmunoglobulina conjugada, CARACTERIZADO PORQUE dicho método comprende:

i) poner una inmunoglobulina, o una porción de unión al antígeno de esta, en contacto con una transglutaminasa microbiana y un sustrato donante de acilo,

a) en donde la inmunoglobulina, o una porción de unión al antígeno de esta, comprende un residuo lisina modificado, en donde el residuo lisina

modificado es un residuo de aminoácido natural que se ha mutado en un residuo lisina, y

en donde el residuo de aminoácido natural que ha sido mutado a un residuo lisina se selecciona del grupo que consiste en:

Treonina 135 (T135K), Serina 136 (S136K), Leucina 193 (L193K), Ácido aspártico 221 (D221K), Treonina 223 (T223K), Histidina 224 (H224K), Treonina 225 (T225K), Metionina 252 (M252K), Asparagina 297 (N297K) y Prolina 445 (P445K) en una región constante de una cadena pesada de la inmunoglobulina, o una porción de unión al antígeno de esta,

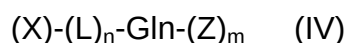
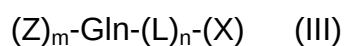
Leucina 201 (L201K) y Serina 202 (S202K) en una región constante kappa de una cadena liviana de la inmunoglobulina, o una porción de unión al antígeno de esta, y

Ácido glutámico 213 (E213K) en una región constante lambda de una cadena liviana de la inmunoglobulina, o una porción de unión al antígeno de esta;

en donde los residuos de aminoácidos se numeran según el sistema de numeración de la UE; y

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

en donde el sustrato donante de acilo es de acuerdo con una de las fórmulas (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 independientemente un conector lineal o ramificado de 1 a 20

átomos de carbono, en donde uno o más de los átomos de carbono pueden estar opcional e independientemente reemplazados por un átomo de nitrógeno, oxígeno o azufre, y en donde cada átomo de carbono y nitrógeno puede estar opcionalmente sustituido; o cada L es opcional e independientemente un residuo de aminoácido;

m es un número entero de 0 a 5;

n es un número entero de 0 a 5; y

X es un grupo reactivo,

en donde la transglutaminasa microbiana conjuga el residuo lisina modificado de la inmunoglobulina, o una porción de unión al antígeno de esta, con el residuo glutamina del sustrato donante de acilo, y

ii) conjugar un agente terapéutico o de diagnóstico con el grupo reactivo del sustrato donante de acilo, para generar de esta manera la inmunoglobulina conjugada.

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

4. El método de la reivindicación 1 o la reivindicación 2, CARACTERIZADO PORQUE la inmunoglobulina, o una porción de unión al antígeno de esta, es un fragmento de unión al antígeno (Fab), y en donde el residuo de aminoácido natural que se ha mutado en un residuo lisina se selecciona del grupo que consiste en: Ácido aspártico 221 (D221K), Treonina 223 (T223K), Histidina 224 (H224K) y Treonina 225 (T225K) sobre una cadena pesada de la inmunoglobulina, o una porción de unión al antígeno de esta.

5. El método de la reivindicación 4, CARACTERIZADO PORQUE el Fab comprende toda la región bisagra o una región bisagra truncada.

6. El método de la reivindicación 1 o la reivindicación 2, CARACTERIZADO PORQUE la inmunoglobulina, o una porción de unión al

antígeno de esta, comprende además un segundo residuo lisina modificado, en donde el segundo residuo lisina modificado es un segundo residuo lisina insertado o un segundo residuo de aminoácido natural que se ha mutado en un segundo residuo lisina, y en donde la transglutaminasa microbiana conjuga el segundo residuo lisina modificado de la inmunoglobulina, o una porción de unión al antígeno de esta, con el residuo glutamina del sustrato donante de acilo, opcionalmente

en donde el residuo de aminoácido natural que ha sido mutado a residuo de lisina modificado es Serina 136 (S136K) en una cadena pesada de la inmunoglobulina, o una porción de unión a antígeno de esta y el segundo residuo de aminoácido natural que ha sido mutado al segundo el residuo de lisina modificado es Serina 202 (S202K) en una cadena liviana kappa de la inmunoglobulina, o una porción de unión a antígeno de esta;

en donde el residuo de aminoácido natural que ha sido mutado al residuo de lisina modificado es Treonina 135 (T135K) en una cadena pesada de la inmunoglobulina, o una porción de unión a antígeno de esta, y el segundo residuo de aminoácido natural que ha sido mutado al segundo el residuo de lisina modificado es Leusina 201 (L201K) en una cadena liviana kappa de la inmunoglobulina, o una porción de unión a antígeno de esta;

en donde el residuo de aminoácido natural que ha sido mutado al residuo de lisina modificado es Treonina 135 (T135K) en una cadena pesada de la inmunoglobulina, o una porción de unión a antígeno de esta, y el segundo residuo de aminoácido natural que ha sido mutado al segundo el residuo de lisina modificado es Serina 202 (S202K) en una cadena liviana kappa de la inmunoglobulina, o una porción de unión a antígeno de esta;

en donde la inmunoglobulina, o una porción de unión a antígeno de esta, comprende además un tercer residuo de lisina modificado, donde el tercer residuo de lisina modificado es una inserción de un tercer residuo lisina o un tercer residuo de aminoácido natural que ha sido mutado a un tercer residuo

lisina, y donde la transglutaminasa microbiana conjuga el tercer residuo lisina modificado de la inmunoglobulina, o una porción de unión al antígeno de esta, con el residuo glutamina del sustrato donante de acilo, opcionalmente

en donde el residuo de aminoácido natural que ha sido mutado al residuo de lisina modificado es Serina 136 (S136K) en una cadena pesada de la inmunoglobulina, o una porción de unión a antígeno de esta, el segundo residuo de aminoácido natural que ha sido mutado al segundo residuo lisina modificado es Asparagina 297 (N297K) en una cadena pesada de la inmunoglobulina, o una porción de unión a antígeno de esta, y el tercer residuo de aminoácido natural que ha sido mutado al tercer residuo lisina modificado es Serina 202 (S202K) en una cadena kappa liviana de la inmunoglobulina, o una porción de unión a antígeno de esta, o

en donde la inmunoglobulina, o una porción de unión a antígeno de esta, comprende además un cuarto residuo lisina modificado, en donde el cuarto residuo lisina modificado es un cuarto residuo lisina insertado o un cuarto residuo de aminoácido natural que ha sido mutado a un residuo lisina, y en donde la transglutaminasa microbiana conjuga el cuarto residuo lisina modificado de la inmunoglobulina, o una porción de unión al antígeno de esta, con el residuo glutamina del sustrato donante de acilo, opcionalmente en donde el residuo de aminoácido natural que ha sido mutado al residuo lisina modificado es Serina 136 (S136K) en una cadena pesada de la inmunoglobulina, o una porción de unión a antígeno de esta, el segundo residuo de aminoácido natural que ha sido mutado al segundo residuo lisina modificado es Asparagina 297 (N297K) en una cadena pesada de la inmunoglobulina, o porción de unión al antígeno de esta, el tercer residuo de aminoácido natural que ha sido mutado al tercer residuo lisina modificado es Serina 202 (S202K) en una cadena kappa liviana de la inmunoglobulina, o una porción de unión a antígeno de esta, y el cuarto residuo de aminoácido natural que ha mutado al cuarto residuo lisina modificado es Prolina 445 (P445K) en una cadena pesada de la inmunoglobulina, o una porción

de unión al antígeno de esta.

7 El método de la reivindicación uno o la reivindicación 1 o la reivindicación 2, CARACTERIZADO PORQUE la inmunoglobulina, o una porción de unión al antígeno de esta, comprende una cadena liviana que comprende una inserción de uno a cuatro aminoácidos adicionales después de la cisteína 214, en donde el residuo lisina insertado es un residuo lisina que se ha insertado después de uno a cuatro aminoácidos adicionales, y en donde se ha insertado un residuo leucina después del residuo lisina, opcionalmente en donde la inserción de uno a cuatro aminoácidos adicionales después de la cisteína 214, el residuo lisina que se ha insertado después de uno a cuatro aminoácidos adicionales y el residuo leucina que se ha insertado después del residuo lisina comprende una secuencia que se selecciona del grupo que consiste en GKL, GGKL, GGSKL y GGSGKL.

8. El método de la reivindicación 1, CARACTERIZADO PORQUE 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) ($-O((CH_2)_2)-$), etilamina ($-NH((CH_2)_2)-$) o propilamina ($-NH((CH_2)_3)-$); y en donde n es 0, 1, 2, 3, 4 ó 5.

9. El método de la reivindicación 1, CARACTERIZADO PORQUE el sustrato donante de acilo es acorde con la fórmula (I), en donde Z es un grupo CBZ y L es un aminoácido.

10. El método de la reivindicación 9, CARACTERIZADO PORQUE L es Gly; m es 1; y n es 0 o 1.

11. El método de la reivindicación 1, CARACTERIZADO PORQUE 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, CARACTERIZADO PORQUE Y es auristatina F.

13. El método de la reivindicación 2, CARACTERIZADO PORQUE 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.

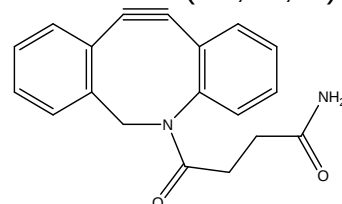
14. El método de la reivindicación 2, CARACTERIZADO PORQUE el sustrato donante de acilo es acorde con la fórmula (III), en donde Z es un grupo CBZ y en donde uno o más L es un aminoácido.

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

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

17. El método de la reivindicación 2, CARACTERIZADO PORQUE 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 2, CARACTERIZADO PORQUE X es un grupo reactivo seleccionado del grupo que consiste en (1R,8S,9s)-



biciclo[6,1,0]non-4-en-9-ilmetanol (BCN),

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

19. El método de la reivindicación 1 o la reivindicación 2, CARACTERIZADO PORQUE el agente terapéutico es un anticuerpo o una porción de unión al antígeno de esta, 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 o la reivindicación 2,

CARACTERIZADO PORQUE el agente de diagnóstico es un fluoróforo, un colorante fluorescente, un radionúclido o una enzima.

21. El método de la reivindicación 1 o la reivindicación 2, CARACTERIZADO PORQUE la transglutaminasa microbiana es una transglutaminasa microbiana de *Streptomyces mobaraensis*.

22. El método de la reivindicación 1 o la reivindicación 2, CARACTERIZADO PORQUE la inmunoglobulina, o su porción de unión a antígeno, es una IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁, IgA₂, una inmunoglobulina IgM, IgD o IgE, o una porción de unión al antígeno de esta.

23. El método de la reivindicación 1 o la reivindicación 2, CARACTERIZADO PORQUE la inmunoglobulina, o una porción de unión al antígeno de esta, es un fragmento de unión al antígeno (Fab).

24. El método de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, CARACTERIZADO PORQUE la inmunoglobulina, o una porción de unión al antígeno de esta, es una inmunoglobulina humana, o una porción de unión al antígeno de esta, o una inmunoglobulina humanizada, o una porción de unión al antígeno de esta.

25. El método de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, CARACTERIZADO PORQUE la inmunoglobulina, o una porción de unión al antígeno de esta, es una inmunoglobulina quimérica, o una porción de unión al antígeno de esta, o una inmunoglobulina no humana, o una porción de unión al antígeno de esta.

26. El método de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, CARACTERIZADO PORQUE la inmunoglobulina, o una porción de unión al antígeno de esta, comprende dos cadenas pesadas y dos cadenas livianas.

27. El método de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, CARACTERIZADO PORQUE la relación entre el agente funcional y la inmunoglobulina, o una porción de unión al antígeno de esta, es de entre 1:1 y 100:1 o entre 1:1 y 200:1.

28. Una inmunoglobulina conjugada, CARACTERIZADA PORQUE comprende una inmunoglobulina, o una porción de unión al antígeno de esta, y un sustrato donante de acilo, en donde

a) la inmunoglobulina, o una porción de unión al antígeno de esta, comprende un residuo lisina modificado, en donde el residuo lisina modificado es un residuo de aminoácido natural que se ha mutado en un residuo lisina,

en donde el residuo de aminoácido natural que ha sido mutado a un residuo lisina se selecciona del grupo que consiste en:

Treonina 135 (T135K), Serina 136 (S136K), Leucina 193 (L193K), Ácido aspártico 221 (D221K), Treonina 223 (T223K), Histidina 224 (H224K), Treonina 225 (T225K), Metionina 252 (M252K), Asparagina 297 (N297K) y Prolina 445 (P445K) en una región constante de una cadena pesada de la inmunoglobulina, o una porción de unión al antígeno de esta,

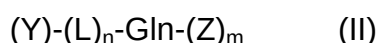
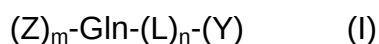
Leucina 201 (L201K) y Serina 202 (S202K) en una región constante kappa de una cadena liviana de la inmunoglobulina, o una porción de unión al antígeno de esta, y

Ácido glutámico 213 (E213K) en una región constante lambda de una cadena liviana de la inmunoglobulina, o una porción de unión al antígeno de esta,

en donde los residuos de aminoácidos se numeran según el sistema de numeración de la UE;

b) el sustrato donante de acilo comprende un residuo glutamina,

en donde el sustrato donante de acilo es de acuerdo con una de las fórmulas (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 independientemente un conector lineal o ramificado de 1 a 20 átomos de carbono, en donde uno o más de los átomos de carbono pueden estar opcional e independientemente reemplazados por un átomo de nitrógeno, oxígeno o azufre, y en donde cada átomo de carbono y nitrógeno puede estar opcionalmente sustituido; o cada L es opcional e independientemente un residuo de aminoácido;

m es un número entero de 0 a 5;

n es un número entero de 0 a 5; e

Y es un agente terapéutico o un agente de diagnóstico,

en donde el residuo lisina modificado de la inmunoglobulina, o una porción de unión al antígeno de esta, está conjugado con el residuo glutamina del sustrato donante de acilo del agente funcional.

29. Una inmunoglobulina conjugada, CARACTERIZADA PORQUE comprende una inmunoglobulina, o una porción de unión al antígeno de esta, y un agente funcional, en donde

a) la inmunoglobulina, o una porción de unión al antígeno de esta, comprende un residuo lisina modificado, en donde el residuo lisina modificado es o un residuo de aminoácido natural que se ha mutado en un residuo lisina,

donde el residuo de aminoácido natural que ha sido mutado a un residuo de lisina se selecciona del grupo que consiste en:

Treonina 135 (T135K), Serina 136 (S136K), Leucina 193 (L193K), Ácido aspártico 221 (D221K), Treonina 223 (T223K), Histidina 224 (H224K), Treonina 225 (T225K), Metionina 252 (M252K), Asparagina 297 (N297K) y Prolina 445 (P445K) en una cadena pesada de la inmunoglobulina, o una porción de unión

al antígeno de esta,

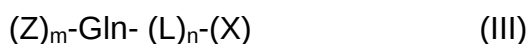
Leucina 201 (L201K) y Serina 202 (S202K) en una cadena kappa liviana de la inmunoglobulina, o porción de unión al antígeno de esta y

Ácido glutámico 213 (E213K) en una cadena lambda liviana de la inmunoglobulina, o porción de unión a antígeno de esta;

en donde los residuos de aminoácidos se numeran según el sistema de numeración de la UE;

b) el residuo de lisina modificado se conjuga con un residuo glutamina en un sustrato donante de acilo, en donde el sustrato donante de acilo comprende además un grupo reactivo,

en donde el sustrato donante de acilo es de acuerdo con una de las fórmulas (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 independientemente un conector lineal o ramificado de 1 a 20 átomos de carbono, en donde uno o más de los átomos de carbono pueden estar opcional e independientemente reemplazados por un átomo de nitrógeno, oxígeno o azufre, y en donde cada átomo de carbono y nitrógeno puede estar opcionalmente sustituido; o cada L es opcional e independientemente un residuo de aminoácido;

m es un número entero de 0 a 5;

n es un número entero de 0 a 5; y

X es un grupo reactivo,

c) el grupo reactivo se conjuga con un agente terapéutico o un agente de diagnóstico.

30. La inmunoglobulina conjugada de la reivindicación 59 o la reivindicación 60, CARACTERIZADA PORQUE la inmunoglobulina, o una porción de unión al antígeno de esta, es un fragmento de unión al antígeno (Fab), y en donde el residuo de aminoácido natural que se ha mutado en un residuo lisina se selecciona del grupo que consiste en: Ácido aspártico 221 (D221K), Treonina 223 (T223K), Histidina 224 (H224K) y Treonina 225 (T225K), sobre una cadena pesada de la inmunoglobulina, o una porción de unión al antígeno de esta.

31. La inmunoglobulina conjugada de la reivindicación 30, CARACTERIZADA PORQUE el Fab comprende toda la región bisagra.

32. La inmunoglobulina conjugada de la reivindicación 30, CARACTERIZADA PORQUE el Fab comprende una región bisagra truncada.

33. La inmunoglobulina conjugada de la reivindicación 28 o la reivindicación 29, CARACTERIZADA PORQUE la inmunoglobulina, o una porción de unión al antígeno de esta, comprende además un segundo residuo lisina modificado, en donde el segundo residuo lisina modificado es un segundo residuo lisina insertado o un segundo residuo de aminoácido natural que se ha mutado en un residuo lisina, y en donde el segundo residuo lisina modificado está conjugado con el residuo glutamina del sustrato donante de acilo.

34. La inmunoglobulina conjugada de la reivindicación 33, CARACTERIZADA PORQUE el residuo de aminoácido natural que se ha mutado en el residuo lisina modificado es Serina 136 (S136K) sobre una cadena pesada de la inmunoglobulina, o una porción de unión al antígeno de esta, y el segundo residuo de aminoácido natural que se ha mutado en el segundo residuo lisina modificado es Serina 202 (S202K) sobre una cadena liviana kappa de la inmunoglobulina, o una porción de unión al antígeno de esta.

35. La inmunoglobulina conjugada de la reivindicación 33, CARACTERIZADA PORQUE el residuo de aminoácido natural que se ha mutado en el residuo lisina modificado es Treonina 135 (T135K) sobre una cadena pesada de la inmunoglobulina, o una porción de unión al antígeno de esta, y el segundo residuo de aminoácido natural que se ha mutado en el segundo residuo lisina modificado es Leucina 201 (L201K) sobre una cadena liviana kappa de la inmunoglobulina, o una porción de unión al antígeno de esta.

36. La inmunoglobulina conjugada de la reivindicación 33, CARACTERIZADA PORQUE el residuo de aminoácido natural que se ha mutado en el residuo lisina modificado es Treonina 135 (T135K) sobre una cadena pesada de la inmunoglobulina, o una porción de unión al antígeno de esta, y el segundo residuo de aminoácido natural que se ha mutado en el segundo residuo lisina modificado es Serina 202 (S202K) sobre una cadena liviana kappa de la inmunoglobulina, o una porción de unión al antígeno de esta.

37. La inmunoglobulina conjugada de la reivindicación 34, CARACTERIZADA PORQUE la inmunoglobulina, o una porción de unión al antígeno de esta, comprende además un tercer residuo lisina modificado, en donde el tercer residuo lisina modificado es un tercer residuo lisina insertado o un tercer residuo de aminoácido natural que se ha mutado en un residuo lisina, y en donde el tercer residuo lisina modificado está conjugado con el residuo glutamina del sustrato donante de acilo.

38. La inmunoglobulina conjugada de la reivindicación 37, CARACTERIZADA PORQUE el residuo de aminoácido natural que se ha mutado en el residuo lisina modificado es Serina 136 (S136K) sobre una cadena pesada de la inmunoglobulina, o una porción de unión al antígeno de esta, el segundo residuo de aminoácido natural que se ha mutado en el segundo residuo lisina modificado es Asparagina 297 (N297K) sobre una cadena pesada de la inmunoglobulina, o una porción de unión al antígeno de esta, y el tercer residuo de aminoácido natural que se ha mutado en el tercer residuo lisina modificado

es Serina 202 (S202K) sobre una cadena liviana kappa de la inmunoglobulina, o una porción de unión al antígeno de esta.

39. La inmunoglobulina conjugada de la reivindicación 37, CARACTERIZADA PORQUE la inmunoglobulina, o una porción de unión al antígeno de esta, comprende además un cuarto residuo lisina modificado, en donde el cuarto residuo lisina modificado es un cuarto residuo lisina insertado o un cuarto residuo de aminoácido natural que se ha mutado en un residuo lisina, y en donde el cuarto residuo lisina modificado está conjugado con el residuo glutamina del sustrato donante de acilo.

40. La inmunoglobulina conjugada de la reivindicación 39, CARACTERIZADA PORQUE el residuo de aminoácido natural que se ha mutado en el residuo lisina modificado es Serina 136 (S136K) sobre una cadena pesada de la inmunoglobulina, o una porción de unión al antígeno de esta, el segundo residuo de aminoácido natural que se ha mutado en el segundo residuo lisina modificado es Asparagina 297 (N297K) sobre una cadena pesada de la inmunoglobulina, o una porción de unión al antígeno de esta, el tercer residuo de aminoácido natural que se ha mutado en el tercer residuo lisina modificado es Serina 202 (S202K) sobre una cadena liviana kappa de la inmunoglobulina, o una porción de unión al antígeno de esta, y el cuarto residuo de aminoácido natural que se ha mutado en el cuarto residuo lisina modificado es Prolina 445 (P445K) sobre una cadena pesada de la inmunoglobulina, o una porción de unión al antígeno de esta.

41. La inmunoglobulina conjugada de la reivindicación 28 o la reivindicación 29, CARACTERIZADA PORQUE la inmunoglobulina, o una porción de unión al antígeno de esta, comprende una cadena liviana que comprende una inserción de uno a cuatro aminoácidos adicionales después de la cisteína 214, en donde la inserción del residuo lisina es un residuo lisina que se ha insertado después de dichos uno a cuatro aminoácidos adicionales, y en donde se ha insertado un residuo leucina después del residuo lisina.

42. La inmunoglobulina conjugada de la reivindicación 41, CARACTERIZADA PORQUE la inserción de uno a cuatro aminoácidos adicionales después de la cisteína 214, el residuo lisina que se ha insertado después de dichos uno a cuatro aminoácidos adicionales y el residuo leucina que se ha insertado después del residuo lisina comprenden una secuencia seleccionada del grupo que consiste en: GKL, GGKL, GGSKL y GGSGKL.

43. La inmunoglobulina conjugada de la reivindicación 28, CARACTERIZADA PORQUE 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) ($-O((CH_2)_2)-$), etilamina ($-NH((CH_2)_2)-$) o propilamina ($-NH((CH_2)_3)-$); y en donde n es 0, 1, 2, 3, 4 ó 5.

44. La inmunoglobulina conjugada de la reivindicación 28, CARACTERIZADA PORQUE 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, CARACTERIZADA PORQUE L es Gly; m es 1; y n es 0.

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

47. La inmunoglobulina conjugada de la reivindicación 28, CARACTERIZADA PORQUE 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 28, CARACTERIZADA PORQUE el agente funcional Y es auristatina F.

49. La inmunoglobulina conjugada de la reivindicación 29, CARACTERIZADA PORQUE 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.

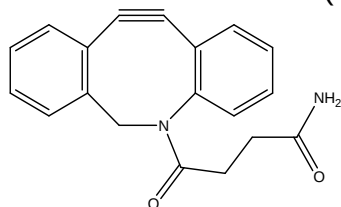
50. El método de la reivindicación 29, CARACTERIZADO PORQUE el sustrato donante de acilo es acorde con la fórmula (III), en donde Z es un grupo CBZ y en donde uno o más L es un aminoácido.

51. La inmunoglobulina conjugada de la reivindicación 51, CARACTERIZADA PORQUE L es Gly; m es 1; y n es 1.

52. La inmunoglobulina conjugada de la reivindicación 51, CARACTERIZADA PORQUE m es 1; y n es 0.

53. La inmunoglobulina conjugada de la reivindicación 29, CARACTERIZADA PORQUE 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 29, CARACTERIZADA PORQUE X es un grupo reactivo seleccionado del grupo que consiste en (1R,8S,9s)-biciclo[6,1,0]non-4-en-9-ilmetanol (BCN),



(dibenzociclooctino; DBCO), trans-cicloocteno (TCO),

azido (N_3), alquino, tetrazinmetilciclopropeno, norborneno, hidrazida/hidrazina y aldehído.

55. La inmunoglobulina conjugada de la reivindicación 28 o la reivindicación 29, CARACTERIZADA PORQUE el agente terapéutico es un anticuerpo o una porción de unión al antígeno de esta, 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 28 o la reivindicación 29, CARACTERIZADA PORQUE el agente de diagnóstico es un

fluoróforo, un colorante fluorescente, un radionúclido o una enzima.

57. La inmunoglobulina conjugada de la reivindicación 28 o la reivindicación 29, CARACTERIZADA PORQUE la inmunoglobulina, o una porción de unión al antígeno de esta, es una inmunoglobulina IgG₁, o una porción de unión al antígeno de esta.

58. La inmunoglobulina conjugada de la reivindicación 28 o la reivindicación 29, CARACTERIZADA PORQUE la inmunoglobulina, o una porción de unión al antígeno de esta, es una inmunoglobulina IgG₂, IgG₃ o IgG₄, o una porción de unión al antígeno de esta.

59. La inmunoglobulina conjugada de la reivindicación 28 o la reivindicación 29, CARACTERIZADA PORQUE la inmunoglobulina, o una porción de unión al antígeno de esta, es una inmunoglobulina IgA₁, una inmunoglobulina IgA₂ o una inmunoglobulina IgM, o una porción de unión al antígeno de esta.

60. La inmunoglobulina conjugada de la reivindicación 28 o la reivindicación 29, CARACTERIZADA PORQUE la inmunoglobulina, o una porción de unión al antígeno de esta, es una inmunoglobulina IgD o IgE, o una porción de unión al antígeno de esta.

61. La inmunoglobulina conjugada de la reivindicación 28 o la reivindicación 29, CARACTERIZADA PORQUE la inmunoglobulina, o una porción de unión al antígeno de esta, es un fragmento de unión al antígeno (Fab).

62. La inmunoglobulina conjugada de cualquiera de las reivindicaciones 28-29, 30-36,37-40,41-42, 43-48 y 49-61, CARACTERIZADA PORQUE la inmunoglobulina, o una porción de unión al antígeno de esta, es una inmunoglobulina humana, o una porción de unión al antígeno de esta, o una inmunoglobulina humanizada, o una porción de unión al antígeno de esta.

63. La inmunoglobulina conjugada de cualquiera de las reivindicaciones 28-29, 30-36,37-40,41-42, 43-48 y 49-61, CARACTERIZADA PORQUE la inmunoglobulina, o una porción de unión al antígeno de esta, es una

inmunoglobulina quimérica, o una porción de unión al antígeno de esta, o una inmunoglobulina no humana, o una porción de unión al antígeno de esta.

64. La inmunoglobulina conjugada de cualquiera de las reivindicaciones 28-29, 30-36,37-40,41-42, 43-48 y 49-61, CARACTERIZADA PORQUE la inmunoglobulina, o una porción de unión al antígeno de esta, comprende dos cadenas pesadas y dos cadenas livianas.

65. La inmunoglobulina conjugada de cualquiera de las reivindicaciones 28-29, 30-36,37-40,41-42, 43-48 y 49-61, CARACTERIZADA PORQUE la relación entre el agente funcional y la inmunoglobulina, o una porción de unión al antígeno de esta, es de entre 1:1 y 100:1 o entre 1:1 y 200:1.

66. La inmunoglobulina conjugada de la reivindicación 28 o la reivindicación 29, CARACTERIZADA PORQUE el agente funcional es un anticuerpo, o una porción de unión al antígeno de esta, y en donde la inmunoglobulina y el agente funcional se unen al mismo antígeno o se unen a antígenos diferentes.

67. Una composición farmacéutica, CARACTERIZADA PORQUE comprende la inmunoglobulina conjugada de cualquiera de las reivindicaciones 28-29, 30-36,37-40,41-42, 43-48 y 49-66 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.