

REIVINDICACIONES

1. Un método para evaluar, en una mezcla que comprende polipéptidos de longitud variable, una cantidad relativa de un primer conjunto de polipéptidos en la mezcla respecto a un segundo conjunto de polipéptidos en la mezcla, en donde cada polipéptido del primer conjunto de polipéptidos comparte un fragmento de código de barras que aparece una vez en el polipéptido y cada polipéptido del segundo conjunto de polipéptidos carece del fragmento de código de barras que comparten los polipéptidos del primer conjunto, en donde los polipéptidos individuales tanto del primer conjunto de polipéptidos como del segundo conjunto de polipéptidos comprenden cada uno un fragmento de referencia, el método comprende:

poner en contacto la mezcla con una proteasa para producir una pluralidad de fragmentos proteolíticos que son el resultado de la escisión del primer conjunto de polipéptidos y el segundo conjunto de polipéptidos, en donde la pluralidad de fragmentos proteolíticos comprende:

una pluralidad de fragmentos de referencia; y

una pluralidad de fragmentos de código de barras; y

determinar una relación de la cantidad de fragmentos de código de barras respecto a la cantidad de fragmentos de referencia, para evaluar de esta manera las cantidades relativas del primer conjunto de polipéptidos respecto al segundo conjunto de polipéptidos.

2. El método de la reivindicación 1, en donde la mezcla de polipéptidos de longitud variable comprende al menos un polipéptido recombinante extendido (XTEN).

3. El método de la reivindicación 2, en donde dicho polipéptido XTEN comprende una pluralidad de motivos de secuencia no superpuestos repetidos al menos una vez en el polipéptido XTEN.

4. El método de la reivindicación 2 o 3, en donde dicho XTEN tiene una longitud de 150 a 1000 aminoácidos, y en donde al menos 90 % de los residuos de aminoácidos del polipéptido XTEN son glicina (G), alanina (A), serina (S), treonina (T), glutamato (E) o prolina (P).

5. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde el fragmento de referencia aparece no más de una vez en cada polipéptido del primer conjunto de polipéptidos y el segundo conjunto de polipéptidos.

6. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde la proteasa escinde los polipéptidos de longitud variable en el lado C-terminal de los residuos de ácido glutámico que no están seguidos por un residuo de prolina.

7. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en donde la proteasa es una proteasa Glu-C.

8. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en donde la proteasa no es tripsina.

9. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en donde la determinación de una relación de la cantidad de fragmentos de código de barras respecto a la cantidad de fragmentos de referencia comprende cuantificar los fragmentos de código de barras y los fragmentos de referencia de la mezcla después de ponerlos en contacto con la proteasa.

10. El método de la reivindicación 9, en donde los fragmentos de código de barras y los fragmentos de referencia se identifican con base en sus respectivas masas.

11. El método de la reivindicación 9 o la reivindicación 10, en donde los fragmentos de código de barras y los fragmentos de referencia se identifican mediante:

- (i) espectrometría de masas, y/o
- (ii) cromatografía líquida-espectrometría de masas (LC-MS).

12. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en donde la determinación de una relación de los fragmentos de código de barras respecto a los fragmentos de referencia comprende:

- (i) marcaje isobárico, y/o
- (ii) enriquecer la mezcla con uno o ambos de un fragmento de referencia marcado con isótopo y un fragmento de código de barras marcado con isótopo.

13. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en donde los polipéptidos de longitud variable:

- (i) comprenden un polipéptido de longitud completa y fragmentos truncados de este;
- (ii) son un polipéptido de longitud completa y fragmentos truncados de este; o
- (iii) difieren entre sí debido al truncamiento N-terminal, al truncamiento C-terminal o al truncamiento tanto N-terminal como C-terminal de un polipéptido de longitud completa.

14. El método de la reivindicación 13, en donde el polipéptido de longitud completa es un polipéptido XTEN tal como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 2–4.