

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 971 088**

51 Int. Cl.:

C07K 16/28 (2006.01)

A61K 39/395 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.08.2013** E 21199451 (2)

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.10.2023** EP 4011915

54 Título: **Métodos para tratar o prevenir el asma mediante administración de un antagonista de IL-4R**

30 Prioridad:

21.08.2012 US 201261691625 P
29.01.2013 US 201361758097 P
06.02.2013 US 201361761279 P
14.03.2013 US 201361783796 P
27.03.2013 US 201361805797 P
16.07.2013 FR 1356994

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
03.06.2024

73 Titular/es:

SANOBI BIOTECHNOLOGY (50.0%)
82 Avenue Raspail
94250 Gentilly, FR y
REGENERON PHARMACEUTICALS, INC. (50.0%)

72 Inventor/es:

ARDELEANU, MARIUS;
GANDHI, NAMITA;
GRAHAM, NEIL;
KIRKESSELI, STEPHANE C.;
KUNDU, SUDEEP;
RADIN, ALLEN;
ROCKLIN, ROSS E.;
WEINSTEIN, STEVEN P.;
DAVIDSON HAMILTON, JENNIFER y
MING, JEFFREY

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 971 088 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Métodos para tratar o prevenir el asma mediante administración de un antagonista de IL-4R

5 **CAMPO DE LA INVENCION**

La presente invención se refiere a un antagonista del receptor de interleuquina-4 (IL-4R) para uso en el tratamiento de un sujeto que padece asma grave, para reducir la incidencia de exacerbaciones del asma en un sujeto que padece asma grave o para mejorar uno o más parámetros asociados con el asma en un sujeto que padece asma grave.

10

ANTECEDENTES

El asma es una enfermedad inflamatoria crónica de las vías respiratorias caracterizada por hiperreactividad de las vías respiratorias, broncoconstricción aguda y crónica, edema de las vías respiratorias y obstrucción mucosa. Se cree que el componente inflamatorio del asma implica muchos tipos de células, incluyendo mastocitos, eosinófilos, linfocitos T, neutrófilos y células epiteliales, y sus productos biológicos. Los pacientes con asma presentan a menudo síntomas de sibilancias, dificultad para respirar, tos y opresión en el pecho. Para la mayoría de los pacientes con asma, un régimen de terapia de control y terapia broncodilatadora proporciona un control adecuado a largo plazo. Los corticosteroides inhalados (ICS, por sus siglas en inglés) se consideran el "estándar de oro" para controlar los síntomas del asma, y los agonistas beta2 inhalados son los broncodilatadores más eficaces disponibles actualmente. Estudios han demostrado que la terapia combinada de un ICS con un agonista beta2 de acción prolongada (LABA, por sus siglas en inglés) inhalado proporciona un mejor control del asma que dosis altas de ICS solos. En consecuencia, la terapia combinada ha sido el tratamiento recomendado para sujetos que no están controlados con dosis bajas de ICS solos.

25

No obstante, se estima que entre el 5 % y el 10 % de la población con asma presenta enfermedad sintomática a pesar del tratamiento máximo recomendado con combinaciones de fármacos antiinflamatorios y broncodilatadores. Además, esta población con asma grave representa hasta el 50 % del costo total de salud a través de admisiones hospitalarias, uso de servicios de emergencia y visitas médicas no programadas. Existe una necesidad insatisfecha de una nueva terapia en esta población con asma grave, ya que muchos de estos pacientes no responden bien a los ICS debido a un cierto número de mecanismos celulares y moleculares. Además, los efectos adversos a largo plazo de los corticosteroides sistémicos e inhalados sobre el metabolismo óseo, la función suprarrenal y el crecimiento en los niños conducen a intentos de minimizar la cantidad de uso de corticosteroides. Aunque una gran parte de los pacientes con asma se gestionan razonablemente bien con los tratamientos actuales, los pacientes con asma grave refractaria a los corticosteroides tienen pocas opciones de tratamiento terapéutico que puedan controlar adecuadamente la enfermedad. La consecuencia de la falta de respuesta al tratamiento o de su incumplimiento es la pérdida del control del asma y, en última instancia, su exacerbación.

30

Una de las razones de la mala respuesta a la medicación en algunos pacientes con asma grave puede ser la heterogeneidad de la enfermedad. Está aumentando el interés en comprender estos distintos fenotipos porque es más probable que la terapia fijada como objetivo tenga éxito en pacientes con características patobiológicas subyacentes similares. Enfoques terapéuticos recientes en el asma se han centrado en tratar de controlar la respuesta de las células T auxiliares-2. La regulación positiva de la interleuquina-4 (IL-4) y la interleuquina-13 (IL-13) se ha implicado como un componente inflamatorio importante de la progresión de la enfermedad del asma. Corren, J et al. "A Randomized, Controlled, Phase 2 Study of AMG 317, an IL-4R Antagonist, in Patients with Asthma", Am J Respir Crit Care Med (2019), 181 (8):788-796 describe un estudio clínico de fase II sobre el tratamiento del asma moderada a grave utilizando el mAb (siglas inglesas de anticuerpo monoclonal) anti-IL-4R AMG 317 totalmente humano.

45

Por consiguiente, existe una necesidad en la técnica de nuevas terapias dirigidas para el tratamiento y/o la prevención del asma.

50

BREVE SUMARIO DE LA INVENCION

La presente invención se define en las reivindicaciones adjuntas. De acuerdo con un aspecto, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo que se une específicamente al receptor de interleuquina-4 (IL-4R) para su uso en el tratamiento de un sujeto que padece asma grave, para reducir la incidencia de exacerbaciones del asma en un sujeto que padece asma grave o en la mejora de uno o más parámetros asociados al asma en un sujeto que padece asma grave, en donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una región variable de la cadena pesada (HCVR, por sus siglas en inglés) que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 162 y una región variable de la cadena ligera (LCVR, por sus siglas en inglés) que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 164, en donde el sujeto tiene un nivel de eosinófilos en sangre de al menos 300 células por microlitro, y/ o un nivel de eosinófilos en el esputo de al menos 3 %, o en donde el sujeto tiene un nivel elevado de óxido nítrico exhalado fraccional (FeNO) de al menos aproximadamente 30 ppb.

65

La exacerbación del asma puede ser una o más de las siguientes: (a) una reducción del 30 % o más desde el valor inicial en el flujo espiratorio pico (PEF, por sus siglas en inglés) matutino en dos días consecutivos; (b) seis o más inhalaciones adicionales de albuterol o levalbuterol en un período de 24 horas (en comparación con el valor inicial) en dos días consecutivos; y (c) un deterioro del asma que requiera: (i) tratamiento con esteroides sistémicos (orales y/o parenterales) o (ii) un aumento de los corticosteroides inhalados hasta al menos 4 veces la última dosis recibida antes de la interrupción o (iii) hospitalización.

En diversas realizaciones, la mejora en un parámetro asociado al asma se define como uno de los siguientes: un aumento desde el valor inicial del FEV1; un aumento desde el valor inicial del PEF AM; un aumento con respecto al valor inicial del PEF PM; una disminución del valor inicial del uso de albuterol/levalbuterol; una disminución con respecto al valor inicial de despertares nocturnos; y/o una disminución con respecto al valor inicial de la puntuación SNOT-22. Ejemplos de parámetros asociados al asma incluyen: (a) volumen espiratorio forzado en 1 segundo (FEV1, por sus siglas en inglés); (b) tasa de caudal espiratorio pico (PEF), incluido el PEF matutino (PEF AM) y el vespertino (PEF PM); (c) uso de un broncodilatador inhalado tal como albuterol o levalbuterol; (d) puntuación del Cuestionario de Control del Asma (ACQ5) de cinco puntos; (e) despertares nocturnos; y (e) puntuación de la prueba de resultados sinonasales (SNOT-22) de 22 puntos. En una realización, la mejora en un parámetro asociado al asma es un aumento de al menos 0,10 L desde el valor inicial de FEV1. En una realización, la mejora en un parámetro asociado al asma es un aumento de al menos 10,0 L/min desde el valor inicial de PEF AM. En una realización, la mejora en un parámetro asociado al asma es un aumento de al menos 1,0 L/min desde el valor inicial de PEF PM. En una realización, la mejora en un parámetro asociado al asma es una disminución en el uso de albuterol/levalbuterol de al menos 1 inhalación por día desde el inicio. En una realización, la mejora en un parámetro asociado al asma es una disminución de al menos 0,5 puntos desde el valor inicial en la puntuación ACQ5. En una realización, la mejora en un parámetro asociado al asma es una disminución de al menos 0,2 veces por noche desde el valor inicial de los despertares nocturnos. En una realización, la mejora en un parámetro asociado al asma es una disminución de al menos 5 puntos desde el valor inicial en la puntuación SNOT-22.

Se puede administrar una única dosis inicial de la composición farmacéutica que comprende el antagonista de IL-4R (un anticuerpo anti-IL-4R o fragmento de unión a antígeno del mismo), seguida de una o más dosis secundarias de la composición farmacéutica que comprende el antagonista de IL-4R. La composición farmacéutica que comprende el antagonista de IL-4R se puede administrar por vía subcutánea, intranasal o intravenosa al sujeto que lo necesite.

De acuerdo con determinadas realizaciones, la composición farmacéutica comprende de 75 mg a 600 mg del anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno que se une específicamente a IL-4R. La composición farmacéutica se puede administrar al sujeto con una frecuencia de dosificación de, p. ej., una vez por semana.

Las realizaciones presentadas en la invención se dirigen a la composición farmacéutica para su uso como se describe arriba, en donde uno o más agentes terapéuticos adicionales se administran en combinación con el antagonista de IL-4R. El agente terapéutico adicional puede administrarse a un sujeto que lo necesite antes, después o simultáneamente con el antagonista de IL-4R. Agentes terapéuticos adicionales ejemplares incluyen, pero no se limitan a uno o más de los siguientes en combinación: inhibidores de IL-1, inhibidores de IL-5, inhibidores de IL-8, inhibidores de IgE, inhibidores del factor de necrosis tumoral (TNF), corticosteroides, agonistas beta2 de larga acción e inhibidores de leucotrienos.

En determinadas realizaciones, el uno o más agentes terapéuticos adicionales comprenden un corticosteroide inhalado (ICS), un beta-agonista de acción prolongada (LABA) o una combinación de un ICS y un LABA.

Otras realizaciones de la invención se describen en las reivindicaciones adjuntas y resultarán evidentes a partir de una revisión de la descripción detallada siguiente.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

La **Figura 1** es un gráfico que muestra un gráfico de Kaplan-Meier del tiempo transcurrido hasta la exacerbación del asma en pacientes tratados con placebo (círculos en blanco) en comparación con pacientes tratados con anticuerpo mAb1 anti-IL-4R (asteriscos). El efecto del tratamiento con un anticuerpo mAb1 anti-IL-4R se mantiene en el tiempo, incluso después de 8 semanas, cuando los pacientes tienen un mayor riesgo de desarrollar exacerbaciones debido a la abstinencia de esteroides. Las líneas verticales discontinuas indican la retirada de LABA.

La **Figura 2** es un gráfico que muestra el cambio medio desde el valor inicial en el volumen espiratorio forzado en 1 segundo (FEV1) en litros en pacientes tratados con placebo (triángulos en blanco) en comparación con pacientes tratados con anticuerpo mAb1 anti-IL-4R (círculos en negro). Las líneas verticales discontinuas indican la retirada de LABA.

La **Figura 3** es un gráfico que muestra el cambio medio desde el valor inicial en la tasa de caudal espiratorio pico matutino (PEF AM) en litros por minuto en pacientes tratados con placebo (triángulos en blanco) en comparación con pacientes tratados con anticuerpo mAb1 anti-IL-4R (círculos en negro).

La **Figura 4** es un gráfico que muestra el cambio medio desde el valor inicial en la tasa de caudal espiratorio pico vespertino (PEF PM) en litros por minuto en pacientes tratados con placebo (triángulos en blanco) en comparación con pacientes tratados con anticuerpo mAb1 anti-IL-4R (círculos en negro).

La **Figura 5** es un gráfico que muestra el cambio medio desde el valor inicial en el uso de albuterol en inhalaciones por día en pacientes tratados con placebo (triángulos en blanco) en comparación con pacientes tratados con anticuerpo mAb1 anti-IL-4R (círculos en negro). Las líneas verticales discontinuas indican la retirada de LABA.

La **Figura 6** es un gráfico que muestra el cambio medio desde el valor inicial en la puntuación del cuestionario de control del asma de cinco puntos (ACQ5) en pacientes tratados con placebo (triángulos en blanco) en comparación con pacientes tratados con anticuerpo mAb1 anti-IL-4R (círculos en negro). Las líneas verticales discontinuas indican la retirada de LABA.

La **Figura 7** es un gráfico que muestra el cambio medio desde el valor inicial en los despertares nocturnos en número de veces por noche en pacientes tratados con placebo (triángulos en blanco) en comparación con pacientes tratados con anticuerpo mAb1 anti-IL-4R (círculos en negro). Las líneas verticales discontinuas indican la retirada de LABA.

La **Figura 8** es un gráfico que muestra el cambio porcentual medio desde el valor inicial en TARC por visita en las semanas 0, 1, 4, 8 y 12 de la población mITT tratada con placebo (círculos en negro) en comparación con los pacientes tratados con anticuerpo mAb1 anti-IL-4R (cuadrados en negro). Las líneas verticales discontinuas indican la retirada de LABA.

La **Figura 9** es un gráfico que muestra el cambio porcentual medio desde el valor inicial en Eotaxina-3 por visita en las semanas 0, 1, 4, 8 y 12 de la población mITT tratada con placebo (círculos en negro) en comparación con los pacientes tratados con anticuerpo mAb1 anti-IL-4R (cuadrados en negro). Las líneas verticales discontinuas indican la retirada de LABA.

La **Figura 10** es un gráfico que muestra el cambio porcentual medio desde el valor inicial en IgE total por visita en las semanas 0, 1, 4, 8 y 12 de la población mITT tratada con placebo (círculos en negro) en comparación con los pacientes tratados con anticuerpo mAb1 anti-IL-4R (cuadrados en negro). Las líneas verticales discontinuas indican la retirada de LABA.

La **Figura 11** es un gráfico que muestra el cambio porcentual medio desde el valor inicial en periostina por visita en las semanas 0, 1, 4, 8 y 12 de la población mITT tratada con placebo (círculos en negro) en comparación con los pacientes tratados con anticuerpo mAb1 anti-IL-4R (cuadrados en negro).

La **Figura 12** es un gráfico que muestra el cambio porcentual medio desde el valor inicial en antígeno carcinoembrionario (CEA) por visita en las semanas 0, 1, 4, 8 y 12 de la población mITT tratada con placebo (círculos en negro) en comparación con los pacientes tratados con anticuerpo mAb1 anti-IL-4R (cuadrados en negro).

La **Figura 13** es un gráfico que muestra el cambio porcentual medio desde el valor inicial en YKL-40 por visita en las semanas 0, 1, 4, 8 y 12 de la población mITT tratada con placebo (círculos en negro) en comparación con los pacientes tratados con anticuerpo mAb1 anti-IL-4R (cuadrados en negro).

La **Figura 14** es un gráfico que muestra el cambio porcentual medio desde el valor inicial en eosinófilos en sangre por visita en las semanas 0, 1, 2, 4, 6, 8 y 12 de la población mITT tratada con placebo (círculos en negro) en comparación con los pacientes tratados con anticuerpo mAb1 anti-IL-4R (cuadrados en negro).

La **Figura 15** es un gráfico que muestra el cambio porcentual medio en el nivel fraccional de óxido nítrico (NO) exhalado desde el valor inicial por visita en las semanas 0, 4, 8 y 12 de la población mITT tratada con placebo (círculos en negro) en comparación con los pacientes tratados con anticuerpo mAb1 anti-IL-4R (cuadrados en negro). Las líneas verticales discontinuas indican la retirada de LABA.

La **Figura 16** es un diagrama de dispersión del cambio en el FEV1 (L) desde el valor inicial en la semana 12 frente a la fracción inicial de óxido nítrico exhalado (FeNO) (PPB) en la población mITT tratada con placebo (círculos en blanco y línea completa) en comparación con los pacientes tratados con anticuerpo mAb1 anti-IL-4R (signo más y línea discontinua).

La **Figura 17** es un diagrama de dispersión del cambio en el PEF AM (L/min) desde el valor inicial en la semana 12 frente al FeNO inicial (PPB) en la población mITT tratada con placebo (círculos en blanco y línea completa) en comparación con los pacientes tratados con anticuerpo mAb1 anti-IL-4R (signo más y línea discontinua).

5

La **Figura 18** es un diagrama de dispersión del cambio en el PEF PM (L/min) desde el valor inicial en la semana 12 frente al FeNO inicial (PPB) en la población mITT tratada con placebo (círculos en blanco y línea completa) en comparación con los pacientes tratados con anticuerpo mAb1 anti-IL-4R (signo más y línea discontinua).

10

La **Figura 19** es un diagrama de dispersión del cambio en el FEV1 desde el valor inicial en la semana 12 (L) frente al recuento de eosinófilos en sangre (GIGA/L) en la población mITT tratada con placebo (círculos en blanco y línea completa) en comparación con los pacientes tratados con anticuerpo mAb1 anti-IL-4R (signo más y línea discontinua).

15

La **Figura 20** es un diagrama de dispersión del cambio en el ACQ desde el valor inicial en la semana 12 frente al al recuento de eosinófilos en sangre (GIGA/L) en la población mITT tratada con placebo (círculos en blanco y línea completa) en comparación con los pacientes tratados con anticuerpo mAb1 anti-IL-4R (signo más y línea discontinua).

20

La **Figura 21** es un diagrama de dispersión del cambio en el uso de albuterol/levalbuterol por día desde el valor inicial en la semana 12 frente al recuento de eosinófilos en sangre (GIGA/L) en la población mITT tratada con placebo (círculos en blanco y línea completa) en comparación con los pacientes tratados con anticuerpo mAb1 anti-IL-4R (signo más y línea discontinua).

25

La **Figura 22** es un diagrama de dispersión del cambio en el ACQ desde el valor inicial en la semana 12 frente a periostina inicial en la población mITT tratada con placebo (círculos en blanco y línea completa) en comparación con los pacientes tratados con anticuerpo mAb1 anti-IL-4R (signo más y línea discontinua).

30

La **Figura 23** es un diagrama de dispersión del cambio en el ACQ desde el valor inicial en la semana 12 frente a YKL-40 en la población mITT tratada con placebo (círculos en blanco y línea completa) en comparación con los pacientes tratados con anticuerpo mAb1 anti-IL-4R (signo más y línea discontinua).

35

La **Figura 24** es una representación esquemática de los regímenes de sincronización y dosificación para el tratamiento de pacientes con asma.

40

La **Figura 25** es un diagrama que describe la disposición de los pacientes de un estudio aleatorizado, controlado con placebo, doble ciego, de grupos paralelos realizado con administración subcutánea una vez a la semana de 300 mg de mAb1 o placebo durante 12 semanas a pacientes con asma eosinofílico de moderado a grave persistente que estaban parcialmente controlados/no controlados con corticosteroides inhalados (ICS) y terapia con agonistas beta2 de acción prolongada (LABA).

45

Las **Figuras 26A y 26B** son diagramas de dispersión de los síntomas de asma matutinos (A) y vespertinos (B) medidos a lo largo de 12 semanas después de la administración de placebo (triángulos en blanco) o mAb1 (círculos en negro).

50

La **Figura 27** es un gráfico que muestra los niveles de IgE en suero en ratones humanizados IL-4/IL-4R (IL-4^{hu/hu} IL-4R^{hu/hu}) después de la exposición a los ácaros del polvo doméstico (HDM, por sus siglas en inglés) y el tratamiento con anticuerpo anti-IL-4R o una molécula del receptor señuelo IL-13Ra2-Fc, o tratamiento simulado. Las mediciones se realizaron en muestras tomadas el Día 40 (24 horas antes de la primera dosis del tratamiento) y al final del experimento el Día 85.

55

La **Figura 28** es un gráfico que muestra los niveles de IgE en suero en ratones de tipo salvaje (Balb/c) después de la exposición a los ácaros del polvo doméstico (HDM) y el tratamiento con control de isotipo, anticuerpo anti-IL-4R o una molécula del receptor señuelo IL-13Ra2-Fc o tratamiento simulado.

60

La **Figura 29** es un gráfico que muestra el contenido de colágeno (expresado en términos de $\mu\text{g/lóbulos}$) de los pulmones de ratones IL-4/IL-4R humanizados después de la exposición a HDM y el tratamiento indicado.

La **Figura 30** es un gráfico que muestra el contenido de colágeno (expresado en términos de $\mu\text{g/lóbulos}$) de los pulmones de ratones de tipo salvaje después de la exposición a HDM y el tratamiento indicado.

La **Figura 31A** es un gráfico que muestra los niveles de eosinófilos y neutrófilos en ratones IL-4/IL-4R humanizados después de la exposición a HDM y el tratamiento indicado, y la **Figura 31B** es un gráfico que muestra los niveles de células dendríticas residentes y células dendríticas inflamatorias, en ratones IL-4/IL-4R humanizados después de la exposición a HDM y el tratamiento indicado.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

Antes de describir la presente invención, debe entenderse que esta invención no se limita a los métodos y condiciones experimentales particulares descritos, ya que dichos métodos y condiciones pueden variar. También debe entenderse que la terminología utilizada en esta memoria tiene el propósito de describir realizaciones particulares únicamente.

- 5 A menos que se defina lo contrario, todos los términos y expresiones técnicos y científicos utilizados en esta memoria tienen el mismo significado que entiende comúnmente un experto en la técnica a la que pertenece esta invención.

10 Tal como se utiliza en esta memoria, memoria, el término "aproximadamente", cuando se utiliza en referencia a un valor numérico recitado particular, significa que el valor puede variar del valor recitado en no más del 1 %. Por ejemplo, como se utiliza en esta memoria, la expresión "aproximadamente 100" incluye 99 y 101 y todos los valores intermedios (p. ej., 99,1, 99,2, 99,3, 99,4, etc.).

15 Tal como se utilizan en esta memoria, los términos "tratar", "tratando", o similares, significan aliviar los síntomas, eliminar la causa de los síntomas ya sea de forma temporal o permanente, o prevenir o retardar la aparición de síntomas del trastorno o afección mencionado.

Se describen ahora los métodos y materiales preferidos.

Métodos para Reducir la Incidencia de Exacerbaciones del Asma

20 También se describen, pero no forman parte de la invención, métodos para reducir la incidencia de exacerbaciones del asma en un sujeto que lo necesita, que comprenden administrar al sujeto una composición farmacéutica que comprende un antagonista del receptor de interleuquina-4 (IL-4R). Tal como se utiliza en esta memoria, la expresión "exacerbación del asma" significa un aumento en la gravedad y/o frecuencia y/o duración de uno o más síntomas o
25 indicios de asma. Una "exacerbación del asma" también incluye cualquier deterioro en la salud respiratoria de un sujeto que requiere o es tratable mediante una intervención terapéutica para el asma (tal como, p. ej., tratamiento con esteroides, tratamiento con corticosteroides inhalados, hospitalización, etc.). De acuerdo con determinadas realizaciones de la invención, una exacerbación del asma se define como uno o más de los siguientes: (a) una
30 reducción del 30 % o más desde el valor inicial en el flujo espiratorio pico matutino ("PEF AM", como se define en otra parte en esta memoria) en dos días consecutivos; (b) seis o más inhalaciones adicionales de albuterol o levalbuterol en un período de 24 horas (en comparación con el valor inicial) en dos días consecutivos; y (c) un deterioro del asma (p. ej., según lo determine un médico u otro profesional médico) que requiera al menos uno de: (i) tratamiento con esteroides sistémicos (orales y/o parenterales), o (ii) un aumento de los corticosteroides inhalados a al menos 4 veces el nivel inicial, o (iii) hospitalización.

35 En determinados casos, una exacerbación del asma puede clasificarse como una "exacerbación grave del asma". Una exacerbación grave del asma significa un incidente que requiere intervención inmediata en forma de tratamiento con corticosteroides sistémicos o con corticosteroides inhalados en cuatro o más veces la dosis tomada antes del incidente. Por lo tanto, la expresión general "exacerbación del asma" incluye y abarca la subcategoría más específica
40 de "exacerbaciones graves del asma". Por consiguiente, la presente divulgación incluye métodos para reducir la incidencia de exacerbaciones graves del asma en un paciente que lo necesita.

45 Una "reducción en la incidencia" de una exacerbación del asma significa que un sujeto que ha recibido una composición farmacéutica de la presente invención experimenta menos exacerbaciones del asma (es decir, al menos una exacerbación menos) después del tratamiento que antes del tratamiento, o no experimenta exacerbaciones del asma durante al menos 4 semanas (p. ej., 4, 6, 8, 12, 14 o más semanas) después del inicio del tratamiento con una composición farmacéutica de la presente invención. Una "reducción en la incidencia" de una exacerbación del asma significa alternativamente que, después de la administración de una composición farmacéutica de la presente
50 invención, la probabilidad de que un sujeto experimente una exacerbación del asma disminuye en al menos un 10 % (p. ej., un 10.%, un 15.%, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, o más) en comparación con un sujeto que no ha recibido una composición farmacéutica de la presente invención.

Métodos para Mejorar los Parámetros Asociados al Asma

55 También se describen, pero no forman parte de la invención, métodos para mejorar uno o más parámetros asociados con el asma en un sujeto que lo necesita, en donde los métodos comprenden administrar una composición farmacéutica que comprende un antagonista del receptor de interleuquina-4 (IL-4R) al sujeto. Para los fines de la invención, una reducción en la incidencia de una exacerbación del asma (como se describió arriba) puede correlacionarse con una mejora en uno o más parámetros asociados al asma; sin embargo, dicha correlación no
60 necesariamente se observa en todos los casos.

Ejemplos de "parámetros asociados al asma" incluyen: (a) volumen espiratorio forzado en 1 segundo (FEV1); (b) caudal espiratorio pico (PEF), incluido el PEF matutino (PEF AM) y el vespertino (PEF PM); (c) uso de un broncodilatador inhalado tal como albuterol o levalbuterol; (d) puntuación del Cuestionario de Control del Asma (ACQ5) de cinco puntos; (d) despertares nocturnos; y (e) puntuación de la prueba de resultados sinonasales (SNOT-22) de 22
65 puntos. Una "mejora en un parámetro asociado al asma" significa un aumento con respecto al valor inicial de uno o

más de FEV1, PEF AM o PEF PM, y/o una disminución con respecto al valor inicial de uno o más del uso diario de albuterol/levalbuterol, puntuación ACQ5, promedio de despertares nocturnos o puntuación SNOT-22. Tal como se utiliza en esta memoria, la expresión "valor inicial", con respecto a un parámetro asociado al asma, significa el valor numérico del parámetro asociado al asma para un paciente antes o en el momento de la administración de una composición farmacéutica de la presente invención.

Para determinar si un parámetro asociado al asma ha "mejorado", el parámetro se cuantifica al inicio y en un momento posterior a la administración de la composición farmacéutica de la presente invención. Por ejemplo, un parámetro asociado al asma puede medirse el día 1, día 2, día 3, día 4, día 5, día 6, día 7, día 8, día 9, día 10, día 11, día 12, día 14, o en la semana 3, semana 4, semana 5, semana 6, semana 7, semana 8, semana 9, semana 10, semana 11, semana 12, semana 13, semana 14, semana 15, semana 16, semana 17, semana 18, semana 19, semana 20, semana 21, semana 22, semana 23, semana 24, o más, después del tratamiento inicial con una composición farmacéutica de la presente invención. La diferencia entre el valor del parámetro en un momento particular después del inicio del tratamiento y el valor del parámetro al inicio del tratamiento se utiliza para establecer si ha habido una "mejoría" en el parámetro asociado al asma (p. ej., un aumento o una disminución, según sea el caso, dependiendo del parámetro específico que se esté midiendo).

Los términos "adquirir" o "adquiriendo", tal como se utilizan en esta memoria, se refieren a obtener posesión de una entidad física, o un valor, p. ej., un valor numérico, "adquiriendo directamente" o "adquiriendo indirectamente" la entidad física o el valor, tal como un parámetro asociado al asma. "Adquirir directamente" significa realizar un proceso (p. ej., realizar un método sintético o analítico) para obtener la entidad física o el valor. "Adquirir indirectamente" se refiere a recibir la entidad física o el valor de otra parte o fuente (p. ej., un laboratorio externo que adquirió directamente la entidad física o el valor). Adquirir directamente una entidad física incluye realizar un proceso que incluye un cambio físico en una sustancia física, p. ej., un material de partida. Cambios ejemplares incluyen crear una entidad física a partir de dos o más materiales de partida, cortar o fragmentar una sustancia, separar o purificar una sustancia, combinar dos o más entidades separadas en una mezcla, realizar una reacción química que incluye romper o formar un enlace covalente o no covalente. Adquirir directamente un valor incluye realizar un proceso que incluye un cambio físico en una muestra u otra sustancia, p. ej., realizar un proceso analítico que incluye un cambio físico en una sustancia, p. ej., una muestra, analito o reactivo (a veces referido en esta memoria como "análisis físico").

La información que se adquiere indirectamente puede proporcionarse en forma de informe, p. ej., en papel o en formato electrónico tal como desde una base de datos o una aplicación en línea (una "App"). El informe o la información pueden ser proporcionados, por ejemplo, por una institución sanitaria, tal como un hospital o una clínica; o un proveedor de atención médica tal como un médico o una enfermera.

Volumen Espiratorio Forzado en 1 Segundo (FEV1). De acuerdo con determinadas realizaciones de la invención, la administración de un antagonista de IL-4R a un paciente da como resultado un aumento desde el valor inicial del volumen espiratorio forzado en 1 segundo (FEV1). Métodos para medir el FEV1 son conocidos en la técnica. Por ejemplo, se puede utilizar un espirómetro que cumpla con las recomendaciones de 2005 de la American Thoracic Society (ATS)/European Respiratory Society (ERS) (Sociedad Torácica Estadounidense (ATS)/la Sociedad Respiratoria Europea (ERS)) para medir el FEV1 en un paciente. La estandarización de espirometría de ATS/ERS se puede utilizar como guía. La espirometría se realiza generalmente entre las 6 y las 10 AM después de una suspensión de albuterol de al menos 6 horas. Los ensayos de función pulmonar generalmente se miden en posición sentada y la medida más alta se registra para el FEV1 (en litros).

También se describen, pero no forman parte de la invención, métodos terapéuticos que dan como resultado un aumento del FEV1 desde el valor inicial de al menos 0,05 L en la semana 12 después del inicio del tratamiento con una composición farmacéutica que comprende un antagonista anti-IL-4R. Por ejemplo, de acuerdo con la invención, la administración de un antagonista de IL-4R a un sujeto que lo necesita provoca un aumento del FEV1 desde el valor inicial de aproximadamente 0,05 L, 0,10 L, 0,12 L, 0,14 L, 0,16 L, 0,18 L, 0,20 L, 0,22 L, 0,24 L, 0,26 L, 0,28 L, 0,30 L, 0,32 L, 0,34 L, 0,36 L, 0,38 L, 0,40 L, 0,42 L, 0,44 L, 0,46 L, 0,48 L, 0,50 L o más por semana 12.

Flujo Espiratorio Pico Matutino y Vespertino (PEF AM y PEF PM). De acuerdo con determinadas realizaciones de la invención, la administración de un antagonista de IL-4R a un paciente da como resultado un aumento desde el valor inicial del flujo espiratorio pico matutino (AM) y/o vespertino (PM) (PEF AM y/o PEF PM). Métodos para medir el PEF son conocidos en la técnica. Por ejemplo, de acuerdo con un método para medir el PEF, a los pacientes se les entrega un medidor electrónico de PEF para registrar el PEF matutino (AM) y vespertino (PM) (así como el uso diario de albuterol, las puntuaciones de los síntomas de asma matutinos y vespertinos y el número de despertares nocturnos). debido a síntomas de asma que requieren medicamentos de rescate). Los pacientes reciben instrucciones sobre el uso del dispositivo y se les proporcionan instrucciones escritas sobre el uso del medidor electrónico de PEF. Además, un profesional médico puede instruir a los pacientes sobre cómo registrar las variables pertinentes en el medidor electrónico de PEF. El PEF AM generalmente se realiza dentro de los 15 minutos posteriores a levantarse (entre las 6 a.m. y las 10 a.m.) antes de tomar albuterol. El PEF PM generalmente se realiza por la noche (entre las 6 p.m. y las 10 p.m.) antes de tomar albuterol. Los sujetos deben intentar suspender el albuterol durante al menos 6 horas antes de medir su PEF. El paciente realiza tres esfuerzos de PEF y el medidor electrónico de PEF registra los 3 valores. Habitualmente se utiliza el valor más alto para la evaluación. El PEF AM inicial se puede calcular como la medición

AM media registrada durante los 7 días anteriores a la administración de la primera dosis de la composición farmacéutica que comprende el antagonista de IL-4R, y el PEF PM inicial se puede calcular como la medición PM media registrada durante los 7 días antes de la administración de la primera dosis de la composición farmacéutica que comprende el antagonista de IL-4R.

5 También se describen, pero no forman parte de la invención, métodos terapéuticos que dan como resultado un aumento del PEF AM y/o PEF PM desde el valor inicial de al menos 1,0 L/min en la semana 12 después del inicio del tratamiento con una composición farmacéutica que comprende un antagonista anti-IL-4R. Por ejemplo, la administración de un antagonista de IL-4R a un sujeto que lo necesita provoca un aumento en el PEF desde el valor
10 inicial de aproximadamente 0,5 L/min, 1,0 L/min, 1,5 L/min, 2,0 L/min, 2,5 L/min, 3,0 L/min, 3,5 L/min, 4,0 L/min, 4,5 L/min, 5,0 L/min, 5,5 L/min, 6,0 L/min, 6,5 L/min, 7,0 L/min, 7,5 L/min, 8,0 L/min, 8,5 L/min, 9,0 L/min, 9,5 L/min, 10,0 L/min, 10,5 L/min, 11,0 L/min, 12,0 L/min, 15 L/min, 20 L/min, o más en la semana 12.

15 Uso de Albuterol/Levalbuterol. De acuerdo con determinadas realizaciones de la invención, la administración de un antagonista de IL-4R a un paciente da como resultado una disminución desde el valor inicial del uso diario de albuterol o levalbuterol. Los pacientes pueden registrar diariamente el número de inhalaciones de albuterol/levalbuterol en un diario, medidor de PEF u otro dispositivo de registro. Durante el tratamiento con la composición farmacéutica de la invención, el uso de albuterol/levalbuterol puede realizarse típicamente según sea necesario para los síntomas, no de forma regular o profiláctica. El número inicial de inhalaciones de albuterol/levalbuterol/día se puede calcular
20 basándose en la media de los 7 días anteriores a la administración de la primera dosis de la composición farmacéutica que comprende el antagonista de IL-4R.

También se describen, pero no forman parte de la invención, métodos terapéuticos que dan como resultado una
25 disminución en el uso de albuterol/levalbuterol desde el inicio de al menos 0,25 inhalaciones por día en la semana 12 después del inicio del tratamiento con una composición farmacéutica que comprende un antagonista anti-IL-4R. Por ejemplo, la administración de un antagonista de IL-4R a un sujeto que lo necesita provoca una disminución en el uso de albuterol/levalbuterol desde el inicio de aproximadamente 0,25 inhalaciones por día, 0,50 inhalaciones por día, 0,75 inhalaciones por día, 1,00 inhalaciones por día, 1,25 inhalaciones por día, 1,5 inhalaciones por día, 1,75 inhalaciones por día, 2,00 inhalaciones por día, 2,25 inhalaciones por día, 2,5 inhalaciones por día, 2,75 inhalaciones por día, 3,00 inhalaciones por día o más en la semana 12.
30

Puntuación del Cuestionario de Control del Asma (ACQ) de 5 Puntos. De acuerdo con determinadas realizaciones de la invención, la administración de un antagonista de IL-4R a un paciente da como resultado una disminución
35 disminución con respecto al valor inicial de la puntuación del Cuestionario de Control del Asma de cinco puntos (ACQ5). El ACQ5 es un cuestionario validado para evaluar el control del asma.

También se describen, pero no forman parte de la invención, métodos terapéuticos que dan como resultado una
40 disminución en la puntuación del ACQ5 desde el valor inicial de al menos 0,10 puntos en la semana 12 después del inicio del tratamiento con una composición farmacéutica que comprende un antagonista anti-IL-4R. Por ejemplo, la administración de un antagonista de IL-4R a un sujeto que lo necesita provoca una disminución en la puntuación ACQ desde el inicio de aproximadamente 0,10 puntos, 0,15 puntos, 0,20 puntos, 0,25 puntos, 0,30 puntos, 0,35 puntos, 0,40 puntos, 0,45 puntos, 0,50 puntos, 0,55 puntos, 0,60 puntos, 0,65 puntos, 0,70 puntos, 0,75 puntos, 0,80 puntos, 0,85 puntos o más en la semana 12.

45 Despertares Nocturnos. De acuerdo con determinadas realizaciones de la invención, la administración de un antagonista de IL-4R a un paciente da como resultado una disminución desde el valor inicial del número promedio de despertares nocturnos.

También se describen, pero no forman parte de la invención, métodos terapéuticos que dan como resultado una
50 disminución en el número promedio de despertares nocturnos desde el inicio de al menos 0,10 veces por noche en la semana 12 después del inicio del tratamiento con una composición farmacéutica que comprende un antagonista anti-IL-4R. Por ejemplo, la administración de un antagonista de IL-4R a un sujeto que lo necesita provoca una disminución en el número promedio de despertares nocturnos desde el inicio de aproximadamente 0,10 veces por noche, 0,15 veces por noche, 0,20 veces por noche, 0,25 veces por noche, 0,30 veces por noche, 0,35 veces por noche, 0,40 veces por noche, 0,45 veces por noche, 0,50 veces por noche, 0,55 veces por noche, 0,60 veces por noche, 0,65 veces por noche, 0,70 veces por noche, 0,75 veces por noche, 0,80 veces por noche, 0,85 veces por noche, 0,90 veces por noche, 0,95 veces por noche, 1,0 veces por noche, 2,0 veces por noche o más en la semana
55 12.

60 Puntuación de la Prueba de Resultados Sinonasales (SNOT-22) de 22 Puntos. De acuerdo con determinadas realizaciones de la invención, la administración de un antagonista de IL-4R a un paciente da como resultado una disminución con respecto al valor inicial de la Prueba de Resultados Sinonasales de 22 puntos (SNOT-22). El SNOT-22 es un cuestionario validado para evaluar el impacto de la rinosinusitis crónica en la calidad de vida (Hopkins et al 2009, Clin. Otolaryngol. 34: 447-454).
65

También se describen, pero no forman parte de la invención, métodos terapéuticos que dan como resultado una disminución en la puntuación del SNOT-22 desde el valor inicial de al menos 1 punto en la semana 12 después del inicio del tratamiento con una composición farmacéutica que comprende un antagonista anti-IL-4R. Por ejemplo, la administración de un antagonista de IL-4R a un sujeto que lo necesita provoca una disminución en la puntuación SNOT-22 desde el inicio de aproximadamente 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 puntos o más en la semana 12.

Métodos para Tratar el Asma

También se describen, pero no forman parte de la invención, métodos para tratar el asma, incluyendo, *p. ej.*, asma eosinofílica, en un sujeto que lo necesita, en los que los métodos comprenden administrar al sujeto una composición farmacéutica que comprende un antagonista del receptor de interleuquina-4 (IL-4R). En determinados casos, estos métodos son útiles para tratar el asma eosinofílica de moderada a grave en un sujeto (*p. ej.*, asma eosinofílica persistente de moderada a grave).

Opcionalmente, se identifica que un sujeto tiene asma eosinofílica de moderada a grave si el sujeto presenta un nivel de eosinófilos en sangre de al menos 300 células por microlitro y/o un nivel de eosinófilos en el esputo de al menos 3 %. Cualquier método conocido y disponible en la técnica para medir el nivel de eosinófilos en sangre y/o esputo se puede utilizar en el contexto de la invención para identificar a un sujeto que tiene asma eosinofílica de moderada a grave y que, por lo tanto, es un sujeto adecuado para la composición farmacéutica para uso en la invención.

También se describen, pero no forman parte de la invención, métodos para tratar el asma, que comprenden: (a) seleccionar un paciente que exhibe un nivel de eosinófilos en sangre de al menos 300 células por microlitro y/o un nivel de eosinófilos en el esputo de al menos 3 %; y (b) administrar al paciente una composición farmacéutica que comprende un antagonista de IL-4R.

También se describen, pero no forman parte de la presente invención, métodos para reducir o eliminar la dependencia de un paciente con asma de los corticosteroides inhalados (ICS) y/o beta-agonistas de acción prolongada (LABA) durante el tratamiento del asma de moderada a grave. Los métodos comprenden: seleccionar un paciente con asma de moderada a grave que no está controlada o está parcialmente controlada con una terapia de fondo; administrar al paciente una dosis definida de un antagonista de IL-4R, preferiblemente un anticuerpo anti-IL-4R, durante un período de tratamiento inicial mientras se mantiene la terapia de fondo del paciente durante el período de tratamiento inicial; y reducir gradualmente la dosis de uno o más componentes de la terapia de fondo durante un período de tratamiento posterior mientras se continúa administrando el antagonista de IL-4R. La expresión "terapia de fondo" se refiere a agentes terapéuticos estándares o convencionales conocidos en la técnica que se utilizan para tratar el asma. La terapia de fondo puede comprender un ICS, un LABA o una combinación de ambos. La dosis de ICS y/o LABA se puede eliminar o retirar por completo durante el período de tratamiento inicial. Por ejemplo, un LABA, tal como salmeterol o formoterol, se administra en un período de tratamiento inicial y se suspende o elimina por completo en el período de tratamiento posterior.

En la Figura 24 se muestra un ejemplo de un régimen de tratamiento para un paciente con asma de moderada a grave, en el que se administra un antagonista de IL-4R a un paciente con asma de moderada a grave. Durante un período de tratamiento inicial (también denominado "fase estable"), se administran al paciente un LABA y un ICS como terapia de fondo. Durante un período de tratamiento posterior (también denominado "fase de retirada"), se detiene la administración de LABA, *es decir*, se retira o elimina el LABA. El ICS se reduce gradualmente durante el período de tratamiento posterior hasta su eliminación.

También se describen, pero no forman parte de la invención, métodos para tratar el asma que comprenden una terapia complementaria a la terapia de fondo con retirada sistemática de la terapia de fondo. Se puede administrar un antagonista de IL-4R como terapia complementaria a un paciente con asma que está en terapia de fondo durante un período de tiempo determinado (*p. ej.*, 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 1 mes, 2 meses, 5 meses, 12 meses, 18 meses, 24 meses o más) (también denominada "fase estable"). La terapia de fondo puede comprender un ICS y/o un LABA. A la fase estable le sigue una fase de retirada de la terapia de fondo, en la que uno o más componentes que comprenden la terapia de fondo se retiran, reducen o eliminan, mientras continúa la terapia complementaria. La terapia de fondo puede reducirse en aproximadamente un 5 %, aproximadamente un 10 %, aproximadamente un 20 %, aproximadamente un 30 %, aproximadamente un 40 %, aproximadamente un 50 % o más durante la fase de retirada. La fase de retirada puede durar 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas, 5 semanas, 6 semanas, 7 semanas, 8 semanas, 9 semanas, 10 semanas, 11 semanas, 12 semanas o más. La terapia de fondo también puede reducirse en aproximadamente un 5 % durante la fase de retirada y la fase de retirada puede durar 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas, 5 semanas, 6 semanas, 7 semanas, 8 semanas, 9 semanas, 10 semanas, 11 semanas, 12 semanas o más. La terapia de fondo también puede reducirse en aproximadamente un 10 % durante la fase de retirada y la fase de retirada puede durar 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas, 5 semanas, 6 semanas, 7 semanas, 8 semanas, 9 semanas, 10 semanas, 11 semanas, 12 semanas o más. La terapia de fondo también puede reducirse en aproximadamente un 20 % durante la fase de retirada y la fase de retirada puede durar 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas, 5 semanas, 6 semanas, 7 semanas, 8 semanas, 9 semanas, 10 semanas, 11 semanas, 12 semanas o más. La terapia de fondo también puede reducirse en aproximadamente un 30 % durante la fase de retirada y la fase de retirada puede durar 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas, 5 semanas, 6 semanas, 7 semanas,

8 semanas, 9 semanas, 10 semanas, 11 semanas, 12 semanas o más. La terapia de fondo también puede reducirse en aproximadamente un 40 % durante la fase de retirada y la fase de retirada puede durar 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas, 5 semanas, 6 semanas, 7 semanas, 8 semanas, 9 semanas, 10 semanas, 11 semanas, 12 semanas o más. La terapia de fondo también puede reducirse en aproximadamente un 50 % o más durante la fase de retirada y la fase de retirada puede durar 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas, 5 semanas, 6 semanas, 7 semanas, 8 semanas, 9 semanas, 10 semanas, 11 semanas, 12 semanas o más.

También se describen, pero no forman parte de la invención, métodos para tratar o aliviar afecciones o complicaciones asociadas con el asma, tales como rinosinusitis crónica, rinitis alérgica, rinosinusitis alérgica por hongos, aspergilosis broncopulmonar alérgica, enfermedad de las vías respiratorias unificadas, síndrome de Churg-Strauss, vasculitis, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD, por sus siglas en inglés) y broncoespasmo inducido por el ejercicio.

También se describen, pero no forman parte de la invención, métodos para tratar el asma persistente. Tal como se utiliza en esta memoria, la expresión "asma persistente" significa que el sujeto tiene síntomas al menos una vez a la semana durante el día y/o la noche, durando los síntomas desde unas pocas horas hasta unos pocos días. El asma persistente es opcionalmente "levemente persistente" (p. ej., más de dos veces por semana, pero menos de un día con síntomas lo suficientemente graves como para interferir con las actividades diarias o el sueño y/o en los casos en los que la función pulmonar es normal o reversible con la inhalación de un broncodilatador), "moderadamente persistente" (p. ej., síntomas que ocurren diariamente con interrupción del sueño al menos semanalmente y/o con función pulmonar moderadamente anormal) o "gravemente persistente" (p. ej., síntomas continuos a pesar del uso correcto de medicamentos aprobados y/o en los casos en los que la función pulmonar está seriamente afectada).

Antagonistas del Receptor de Interleuquina-4

Los métodos descritos en esta memoria comprenden administrar a un sujeto que lo necesita una composición terapéutica que comprende un antagonista del receptor de interleuquina-4 (IL-4R). Tal como se utiliza en esta memoria, un "antagonista de IL-4R" es cualquier agente que se une o interactúa con IL-4R e inhibe la función de señalización biológica normal de IL-4R cuando IL-4R se expresa en una célula *in vitro* o *in vivo*. Ejemplos no limitantes de categorías de antagonistas de IL-4R incluyen antagonistas de IL-4R de molécula pequeña, aptámeros anti-IL-4R, antagonistas de IL-4R basados en péptidos (p. ej., moléculas de "peptidocuerpo") y anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de anticuerpos que se unen específicamente a IL-4R humano.

La expresión "IL4R humano" (hIL-4R) se refiere a un receptor de citoquina humano que se une específicamente a interleuquina-4 (IL-4), tal como IL-4R α (SEQ ID NO: 274).

El término "anticuerpo" se refiere a moléculas de inmunoglobulina que comprenden cuatro cadenas polipeptídicas, dos cadenas pesadas (H) y dos cadenas ligeras (L) interconectadas por enlaces disulfuro, así como multímeros de las mismas (p. ej., IgM). Cada una de las cadenas pesadas comprende una región variable de la cadena pesada (abreviada en esta memoria HCVR o V_H) y una región constante de la cadena pesada. La región constante de la cadena pesada comprende tres dominios, C_{H1}, C_{H2} y C_{H3}. Cada una de las cadenas ligeras comprende una región variable de la cadena ligera (abreviada en esta memoria LCVR o V_L) y una región constante de la cadena pesada. La región constante de la cadena ligera comprende un dominio (C_{L1}). Las regiones V_H y V_L se pueden subdividir, además, en regiones de hipervariabilidad, denominadas regiones determinantes de la complementariedad (CDRs, por sus siglas en inglés), intercaladas con regiones que están más conservadas, denominadas regiones marco (FR, por sus siglas en inglés). Cada una de las V_H y V_L está compuesta por tres CDRs y cuatro FRs, dispuestas desde el extremo amino al extremo carboxi en el siguiente orden: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. Las FRs del anticuerpo anti-IL-4R (o su porción de unión al antígeno) pueden ser idénticas a las secuencias de la línea germinal humana, o pueden estar modificadas de forma natural o artificial. Una secuencia consenso de aminoácidos se puede definir basándose en un análisis en paralelo de dos o más CDRs.

El término "anticuerpo" también incluye fragmentos de unión a antígeno de moléculas de anticuerpo completas. Las expresiones "porción de unión a antígeno" de un anticuerpo, "fragmento de unión a antígeno" de un anticuerpo y similares, tal como se utilizan en esta memoria, incluyen cualquier polipéptido o glicoproteína que se produce de forma natural, obtenible enzimáticamente, sintético o modificado por ingeniería genética que se une específicamente a un antígeno para formar un complejo. Fragmentos de unión a antígeno de un anticuerpo pueden derivarse, p. ej., de moléculas de anticuerpo completas utilizando cualesquiera técnicas estándares adecuadas, tal como digestión proteolítica o técnicas de ingeniería genética recombinante que implican la manipulación y expresión de ADN que codifica dominios variables y opcionalmente constantes del anticuerpo. ADN de este tipo es conocido y/o está fácilmente disponible, p. ej., en fuentes comerciales, colecciones de ADN (incluyendo, p. ej., colecciones de fagos-anticuerpos), o puede sintetizarse. El ADN se puede secuenciar y manipular químicamente o utilizando técnicas de biología molecular, por ejemplo, para disponer uno o más dominios variables y/o constantes en una configuración adecuada, o para introducir codones, crear residuos cisteína, modificar, añadir o eliminar aminoácidos, etc.

Ejemplos no limitantes de fragmentos de unión a antígeno incluyen: (i) fragmentos Fab; (ii) fragmentos F(ab')₂; (iii) fragmentos Fd; (iv) fragmentos Fv; (v) moléculas Fv de cadena sencilla (scFv); (vi) fragmentos dAb; y (vii) unidades de reconocimiento mínimas que consisten en residuos de aminoácidos que imitan la región hipervariable de un

anticuerpo (*p. ej.*, una región determinante de la complementariedad (CDR) aislada tal como un péptido CDR3) o un péptido FR3-CDR3-FR4 restringido. Otras moléculas modificadas por ingeniería genética, tales como anticuerpos de dominio específico, anticuerpos de dominio único, anticuerpos de dominio eliminado, anticuerpos quiméricos, anticuerpos injertados con CDR, diacuerpos, triacuerpos, tetracuerpos, minicuerpos, nanocuerpos (*p. ej.*, nanocuerpos monovalentes, nanocuerpos bivalentes, etc.), los pequeños inmunofármacos modulares (SMIPs, por sus siglas en inglés) y los dominios IgNAR variables de tiburón también se incluyen dentro de la expresión "fragmento de unión a antígeno".

Un fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo comprenderá típicamente al menos un dominio variable. El dominio variable puede ser de cualquier tamaño o composición de aminoácidos y generalmente comprenderá al menos una CDR que es adyacente a o está en marco con una o más secuencias marco. En fragmentos de unión a antígeno que tienen un dominio V_H asociado con un dominio V_L , los dominios V_H y V_L pueden estar situados entre sí en cualquier disposición adecuada. Por ejemplo, la región variable puede ser dimérica y contener dímeros V_H - V_H , V_H - V_L o V_L - V_L . Alternativamente, el fragmento de unión al antígeno de un anticuerpo puede contener un dominio V_H o V_L monomérico.

Un fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo puede contener al menos un dominio variable enlazado covalentemente a al menos un dominio constante. Configuraciones ejemplares, no limitantes, de dominios variables y constantes que se pueden encontrar dentro de un fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo de la presente divulgación incluyen: (i) V_H - C_H1 ; (ii) V_H - C_H2 ; (iii) V_H - C_H3 ; (iv) V_H - C_H1 - C_H2 ; (v) V_H - C_H1 - C_H2 - C_H3 ; (vi) V_H - C_H2 - C_H3 ; (vii) V_H - C_L ; (viii) V_L - C_H1 ; (ix) V_L - C_H2 ; (x) V_L - C_H3 ; (xi) V_L - C_H1 - C_H2 ; (xii) V_L - C_H1 - C_H2 - C_H3 ; (xiii) V_L - C_H2 - C_H3 ; y (xiv) V_L - C_L . En cualquier configuración de dominios variables y constantes, incluyendo cualquiera de las configuraciones ejemplares arriba enumeradas, los dominios variables y constantes pueden estar directamente enlazados entre sí o pueden estar enlazados mediante una región bisagra o de enlazador total o parcial. Una región bisagra puede consistir en al menos 2 (*p. ej.*, 5, 10, 15, 20, 40, 60 o más) aminoácidos que dan como resultado un enlace flexible o semi-flexible entre dominios variables y/o constantes adyacentes en una única molécula de polipéptido, preferiblemente la región bisagra puede consistir en entre 2 y 60 aminoácidos, preferiblemente entre 5 y 50, o preferiblemente entre 10 y 40 aminoácidos. Además, un fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo de la presente divulgación puede comprender un homodímero o heterodímero (u otro multímero) de cualquiera de las configuraciones de dominio variable y constante arriba enumeradas en asociación no covalente entre sí y/o con uno o más dominios V_H o V_L monoméricos (*p. ej.*, mediante enlace(s) disulfuro).

Como ocurre con las moléculas de anticuerpo completas, los fragmentos de unión a antígeno pueden ser monoespecíficos o multiespecíficos (*p. ej.*, biespecíficos). Un fragmento multiespecífico de unión a antígeno de un anticuerpo comprenderá típicamente al menos dos dominios variables diferentes, en donde cada uno de los dominios variables es capaz de unirse específicamente a un antígeno separado o a un epítipo diferente en el mismo antígeno. Cualquier formato de anticuerpo multiespecífico puede adaptarse para su uso en el contexto de un fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo de la presente divulgación utilizando técnicas rutinarias disponibles en la técnica.

La región constante de un anticuerpo es importante en la capacidad de un anticuerpo para fijar el complemento y mediar en la citotoxicidad dependiente de células. Por lo tanto, el isotipo de un anticuerpo puede seleccionarse basándose en si es deseable que el anticuerpo medie en la citotoxicidad.

La expresión "anticuerpo humano" incluye anticuerpos que tienen regiones variables y constantes derivadas de secuencias de inmunoglobulina de la línea germinal humana. No obstante, los anticuerpos humanos presentados en la presente divulgación pueden incluir residuos de aminoácidos no codificados por secuencias de inmunoglobulina de la línea germinal humana (*p. ej.*, mutaciones introducidas por mutagénesis aleatoria o específica del sitio *in vitro* o por mutación somática *in vivo*), por ejemplo en las CDRs y, en particular, CDR3. Sin embargo, la expresión "anticuerpo humano" no incluye anticuerpos en los que secuencias CDR derivadas de la línea germinal de otra especie de mamífero, tal como un ratón, se hayan injertado en secuencias marco humanas.

La expresión "anticuerpo humano recombinante" incluye todos los anticuerpos humanos que se preparan, expresan, crean o aíslan por medios recombinantes, tales como anticuerpos expresados utilizando un vector de expresión recombinante transfectado en una célula huésped (descrito más adelante), anticuerpos aislados de una colección de anticuerpos humanos recombinante, combinatoria (descrita más adelante), anticuerpos aislados de un animal (*p. ej.*, un ratón) que es transgénico para genes de inmunoglobulina humana (véase, *p. ej.*, Taylor et al. (1992) Nucl. Acids Res. 20:6287-6295) o anticuerpos preparados, expresados, creados o aislados por cualquier otro medio que implique el corte y empalme de secuencias de genes de inmunoglobulina humana con otras secuencias de ADN. Anticuerpos humanos recombinantes de este tipo tienen regiones variables y constantes derivadas de secuencias de inmunoglobulinas de la línea germinal humana. En algunos casos, sin embargo, anticuerpos humanos recombinantes de este tipo se someten a mutagénesis *in vitro* (o, cuando se utiliza un animal transgénico para secuencias de Ig humana, a mutagénesis somática *in vivo*) y, por lo tanto, las secuencias de aminoácidos de las regiones V_H y V_L de los anticuerpos recombinantes son secuencias que, si bien derivan de y están relacionadas con las secuencias V_H y V_L de la línea germinal humana, pueden no existir de forma natural dentro del repertorio de la línea germinal de anticuerpos humanos *in vivo*.

Los anticuerpos humanos pueden existir en dos formas que están asociadas con la heterogeneidad bisagra. En una forma, una molécula de inmunoglobulina comprende una construcción estable de cuatro cadenas de aproximadamente 150-160 kDa en la que los dímeros se mantienen unidos mediante un enlace disulfuro de cadena pesada entre cadenas. En una segunda forma, los dímeros no están enlazados mediante enlaces disulfuro entre cadenas y se forma una molécula de aproximadamente 75-80 kDa compuesta por una cadena ligera y pesada acopladas covalentemente (medio anticuerpo). Estas formas han sido extremadamente difíciles de separar, incluso después de la purificación por afinidad.

La frecuencia de aparición de la segunda forma en diversos isotipos de IgG intactos se debe, pero no se limita a diferencias estructurales asociadas con el isotipo de la región bisagra del anticuerpo. Una única sustitución de aminoácido en la región bisagra de la bisagra de IgG4 humana puede reducir significativamente la aparición de la segunda forma (Angal et al. (1993) *Molecular Immunology* 30:105) a niveles típicamente observados utilizando una bisagra de IgG1 humana. También se describen anticuerpos que tienen una o más mutaciones en la región bisagra, C_H2 o C_H3, que pueden ser deseables, por ejemplo, en la producción, para mejorar el rendimiento de la forma de anticuerpo deseada.

Un "anticuerpo aislado" significa un anticuerpo que ha sido identificado y separado y/o recuperado de al menos un componente de su entorno natural. Por ejemplo, un anticuerpo que se ha separado o eliminado de al menos un componente de un organismo, o de un tejido o célula en el que el anticuerpo existe o se produce de forma natural, es un "anticuerpo aislado" para los fines de la presente invención. Un anticuerpo aislado también incluye un anticuerpo *in situ* dentro de una célula recombinante. Los anticuerpos aislados son anticuerpos que se han sometido a al menos una etapa de purificación o aislamiento. Un anticuerpo aislado puede estar sustancialmente libre de otro material celular y/o productos químicos.

La expresión "se une específicamente", o similar, significa que un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo forma un complejo con un antígeno que es relativamente estable en condiciones fisiológicas. Métodos para determinar si un anticuerpo se une específicamente a un antígeno son bien conocidos en la técnica e incluyen, por ejemplo, diálisis de equilibrio, resonancia de plasmón de superficie y similares. Por ejemplo, un anticuerpo que "se une específicamente" a IL-4R, tal como se utiliza en el contexto de la presente invención, incluye anticuerpos que se unen a IL-4R o porción del mismo con una K_D de menos de aproximadamente 1000 nM, menos de aproximadamente 500 nM, menos de aproximadamente 300 nM, menos de aproximadamente 200 nM, menos de aproximadamente 100 nM, menos de aproximadamente 90 nM, menos de aproximadamente 80 nM, menos de aproximadamente 70 nM, menos de aproximadamente 60 nM, menos de aproximadamente 50 nM, menos de aproximadamente 40 nM, menos de aproximadamente 30 nM, menos de aproximadamente 20 nM, menos de aproximadamente 10 nM, menos de aproximadamente 5 nM, menos de aproximadamente 4 nM, menos de aproximadamente 3 nM, menos de aproximadamente 2 nM, menos de aproximadamente 1 nM o menos de aproximadamente 0,5 nM, medido en un ensayo de resonancia de plasmón de superficie. Sin embargo, un anticuerpo aislado que se une específicamente al IL-4R humano puede tener reactividad cruzada con otros antígenos tales como moléculas de IL-4R de otras especies (no humanas).

Los anticuerpos anti-IL-4R útiles para los métodos descritos en esta memoria pueden comprender una o más sustituciones, inserciones y/o deleciones de aminoácidos (p. ej., 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 sustituciones y/o 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 inserciones y/o 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 deleciones) en las regiones marco y/o CDR de los dominios variables de la cadena pesada y ligera en comparación con las secuencias de línea germinal correspondientes de las que se derivaron los anticuerpos. Mutaciones de este tipo pueden determinarse fácilmente comparando las secuencias de aminoácidos descritas en esta memoria con secuencias de la línea germinal disponibles, por ejemplo, en bases de datos públicas de secuencias de anticuerpos. La presente divulgación incluye métodos que implican el uso de anticuerpos, y fragmentos de unión a antígeno de los mismos, que se derivan de cualquiera de las secuencias de aminoácidos descritas en esta memoria, en donde uno o más aminoácidos (p. ej., 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 aminoácidos) dentro de uno o más marcos y/o una o más regiones CDR (p. ej., 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 o 12 con respecto al anticuerpo tetramérico o 1, 2, 3, 4, 5 o 6 con respecto a HCVR y LCVR de un anticuerpo) están mutadas al o a los residuos correspondientes de la secuencia de la línea germinal de la que se derivó el anticuerpo, o al o a los residuos correspondientes de otra secuencia de la línea germinal humana, o a una sustitución de aminoácidos conservadora del o de los residuos de la línea germinal correspondiente (a cambios de la secuencia de este tipo se les alude en esta memoria colectivamente como "mutaciones de la línea germinal"). Una persona con conocimientos ordinarios en la técnica, comenzando con las secuencias de la región variable de las cadenas pesada y ligera descritas en esta memoria, puede producir fácilmente numerosos anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno que comprenden una o más mutaciones individuales de la línea germinal o combinaciones de las mismas. Opcionalmente, todos los residuos marco y/o CDR dentro de los dominios V_H y/o V_L se mutan nuevamente a los residuos encontrados en la secuencia de la línea germinal original de la que se derivó el anticuerpo. Opcionalmente, solo determinados residuos se mutan de nuevo a la secuencia de la línea germinal original, p. ej., solo los residuos mutados que se encuentran dentro de los primeros 8 aminoácidos de FR1 o dentro de los últimos 8 aminoácidos de FR4, o solo los residuos mutados que se encuentran dentro de CDR1, CDR2 o CDR3. Opcionalmente, uno o más de los residuos marco y/o de CDR se mutan al o a los residuos correspondientes de una secuencia de línea germinal diferente (*es decir*, una secuencia de la línea germinal que es diferente de la secuencia de la línea germinal de la que se derivó originalmente el anticuerpo). Además, los anticuerpos de la presente divulgación pueden contener

5 cualquier combinación de dos o más mutaciones de la línea germinal dentro de las regiones marco y/o CDR, *p. ej.*, en donde determinados residuos individuales están mutados al residuo correspondiente de una secuencia de la línea germinal particular, mientras que determinados otros residuos que difieren de la secuencia de la línea germinal original se mantienen o se mutan al residuo correspondiente de una secuencia de la línea germinal diferente. Una vez
 10 obtenidos, los anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno que contienen una o más mutaciones de la línea germinal se pueden analizar fácilmente para determinar una o más propiedades deseadas, tales como especificidad de unión mejorada, afinidad de unión aumentada, propiedades biológicas antagonistas o agonistas mejoradas o potenciadas (según sea el caso), inmunogenicidad reducida, etc. El uso de anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno obtenidos de esta manera general están abarcados dentro de la presente divulgación.

15 También se describen, pero no forman parte de la invención, métodos que implican el uso de anticuerpos anti-IL-4R que comprenden variantes de cualquiera de las secuencias de aminoácidos de HCVR, LCVR y/o CDR descritas en esta memoria que tienen una o más sustituciones conservadoras. Por ejemplo, también se describe el uso de anticuerpos anti-IL-4R que tienen secuencias de aminoácidos HCVR, LCVR y/o CDR con, *p. ej.*, 10 o menos, 8 o menos, 6 o menos, 4 o menos, etc. sustituciones de aminoácidos conservadoras con respecto a cualquiera de las secuencias de aminoácidos de HCVR, LCVR y/o CDR descritas en esta memoria.

20 La expresión "resonancia de plasmón de superficie" se refiere a un fenómeno óptico que permite el análisis de interacciones en tiempo real mediante la detección de alteraciones en las concentraciones de proteínas dentro de una matriz biosensora, por ejemplo utilizando el sistema BIAcore™ (división Biacore Life Sciences de GE Healthcare, Piscataway, NJ).

El término "K_b" se refiere a la constante de disociación en equilibrio de una interacción anticuerpo-antígeno particular.

25 El término "epítopo" se refiere a un determinante antigénico que interactúa con un sitio de unión a antígeno específico en la región variable de una molécula de anticuerpo conocida como parátopo. Un único antígeno puede tener más de un epítopo. Por lo tanto, diferentes anticuerpos pueden unirse a diferentes áreas de un antígeno y pueden tener diferentes efectos biológicos. Los epítopos pueden ser conformacionales o lineales. Un epítopo conformacional se produce mediante aminoácidos yuxtapuestos en el espacio de diferentes segmentos de la cadena polipeptídica lineal.
 30 Un epítopo lineal es aquel producido por residuos de aminoácidos adyacentes en una cadena polipeptídica. En determinadas circunstancias, un epítopo puede incluir restos de sacáridos, grupos fosforilo o grupos sulfonilo en el antígeno.

35 Preparación de Anticuerpos Humanos

Se conocen en la técnica métodos para generar anticuerpos humanos en ratones transgénicos. Cualquiera de estos métodos conocidos se puede utilizar en el contexto de la invención para producir anticuerpos humanos que se unan específicamente al IL-4R humano.

40 Utilizando la tecnología VELOCIMMUNE™ (véase, por ejemplo, el documento US 6.596.541, Regeneron Pharmaceuticals) o cualquier otro método conocido para generar anticuerpos monoclonales, inicialmente se aíslan anticuerpos quiméricos de alta afinidad contra IL-4R que tienen una región variable humana y una región constante de ratón. La tecnología VELOCIMMUNE® implica la generación de un ratón transgénico que tiene un genoma que comprende regiones variables de la cadena ligera y pesada humana enlazadas operativamente a loci de la región constante de ratón endógeno de manera que el ratón produce un anticuerpo que comprende una región variable humana y una región constante de ratón en respuesta a la estimulación antigénica. El ADN que codifica las regiones variables de las cadenas pesada y ligera del anticuerpo se aísla y se une operativamente al ADN que codifica las regiones constantes de las cadenas pesada y ligera humana. Luego, el ADN se expresa en una célula capaz de expresar el anticuerpo completamente humano.

50 Generalmente, un ratón VELOCIMMUNE® es enfrentado al antígeno de interés y se recuperan células linfáticas (tales como células B) de los ratones que expresan anticuerpos. Las células linfáticas pueden fusionarse con una línea celular de mieloma para preparar líneas celulares de hibridoma inmortales, y líneas celulares de hibridoma de este tipo se examinan y seleccionan para identificar líneas celulares de hibridoma que producen anticuerpos específicos contra el antígeno de interés. El ADN que codifica las regiones variables de la cadena pesada y la cadena ligera puede aislarse y enlazarse a regiones constantes isotípicas deseables de la cadena pesada y la cadena ligera. Una proteína anticuerpo de este tipo puede producirse en una célula, tal como una célula CHO. Alternativamente, el ADN que codifica los anticuerpos quiméricos específicos de antígeno o los dominios variables de las cadenas ligera y pesada se puede aislar directamente de linfocitos específicos de antígeno.

60 Inicialmente, se aíslan anticuerpos quiméricos de alta afinidad que tienen una región variable humana y una región constante de ratón. Los anticuerpos se caracterizan y seleccionan por sus características deseables, incluyendo afinidad, selectividad, epítopo, etc., utilizando procesos estándares conocidos por los expertos en la técnica. Las regiones constantes de ratón se reemplazan por una región constante humana deseada para generar un anticuerpo completamente humano presentado en esta memoria, por ejemplo IgG1 o IgG4 de tipo salvaje o modificada. Si bien
 65

la región constante seleccionada puede variar de acuerdo con el uso específico, las características de alta afinidad de unión al antígeno y especificidad del objetivo residen en la región variable.

En general, los anticuerpos que se pueden utilizar en los métodos descritos en esta memoria poseen altas afinidades, como se describió arriba, cuando se miden mediante la unión al antígeno ya sea inmovilizado en fase sólida o en fase de solución. Las regiones constantes de ratón se reemplazan por regiones constantes humanas deseadas para generar los anticuerpos completamente humanos presentados en esta memoria. Si bien la región constante seleccionada puede variar de acuerdo con el uso específico, las características de alta afinidad de unión al antígeno y especificidad del objetivo residen en la región variable.

Ejemplos específicos de anticuerpos humanos o fragmentos de anticuerpos de unión a antígeno que se unen específicamente a IL-4R que se pueden utilizar en el contexto de los métodos descritos en esta memoria incluyen cualquier anticuerpo o fragmento de unión a antígeno que comprenda las tres CDRs de cadena pesada (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) contenidas dentro de una región variable de cadena pesada (HCVR) que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 2, 18, 22, 26, 42, 46, 50, 66, 70, 74, 90, 94, 98, 114, 118, 122, 138, 142, 146, 162, 166, 170, 186, 190, 194, 210, 214, 218, 234, 238, 242, 258 y 262. El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno puede comprender las tres CDRs de cadena ligera (LCVR1, LCVR2, LCVR3) contenidas dentro de una región variable de la cadena ligera (LCVR) que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 10, 20, 24, 34, 44, 48, 58, 68, 72, 82, 92, 96, 106, 116, 120, 130, 140, 144, 154, 164, 168, 178, 188, 192, 202, 212, 216, 226, 236, 240, 250, 260 y 264. Métodos y técnicas para identificar CDRs dentro de las secuencias de aminoácidos de HCVR y LCVR son bien conocidos en la técnica y pueden utilizarse para identificar CDRs dentro de las secuencias de aminoácidos de HCVR y/o LCVR especificadas descritas en esta memoria. Convenciones ejemplares que pueden utilizarse para identificar los límites de las CDRs incluyen, *p. ej.*, la definición de Kabat, la definición de Chothia y la definición de AbM. En términos generales, la definición de Kabat se basa en la variabilidad de la secuencia, la definición de Chothia se basa en la ubicación de las regiones del bucle estructural y la definición de AbM es un compromiso entre los enfoques de Kabat y Chothia. Véase, *p. ej.*, Kabat, "Sequences of Proteins of Immunological Interest," National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991); Al-Lazikani et al., J. Mol. Biol. 273:927-948 (1997); y Martin et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:9268-9272 (1989). También hay disponibles bases de datos públicas para identificar secuencias de CDR dentro de un anticuerpo.

El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende las seis CDRs (HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 y LCDR3) del par de secuencias de aminoácidos de la región variable de las cadenas pesada y ligera (HCVR/LCVR) 162/164.

El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende seis CDRs (HCDR1/HCDR2/HCDR3/LCDR1/LCDR2/LCDR3) que tienen las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 148/150/152/156/158/160.

Composiciones farmacéuticas

También se describen, pero no forman parte de la invención, métodos que comprenden administrar un antagonista de IL-4R a un paciente, en donde el antagonista de IL-4R está contenido dentro de una composición farmacéutica. Las composiciones farmacéuticas presentadas en la invención se formulan opcionalmente con soportes, excipientes y otros agentes adecuados que proporcionan transferencia, administración, tolerancia y similares adecuados. Se puede encontrar una multitud de formulaciones apropiadas en el formulario conocido por todos los químicos farmacéuticos: Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, PA. Estas formulaciones incluyen, por ejemplo, polvos, pastas, ungüentos, jaleas, ceras, aceites, lípidos, vesículas que contienen lípidos (catiónicos o aniónicos) (tales como LIPOFECTIN™), conjugados de ADN, pastas de absorción anhidras, emulsiones de aceite en agua y de agua en aceite, emulsiones de carbowax (polietilenglicoles de diversos pesos moleculares), geles semisólidos y mezclas semisólidas que contienen carbowax. Véase también Powell et al. "Compendium of excipients for parenteral formulations" PDA (1998) J Pharm Sci Technol 52:238-311.

La dosis de anticuerpo administrada a un paciente puede variar dependiendo de la edad y el tamaño del paciente, los síntomas, las condiciones, la vía de administración y similares. La dosis preferida se calcula típicamente de acuerdo con el peso corporal o la superficie corporal. Dependiendo de la gravedad de la afección, se puede ajustar la frecuencia y la duración del tratamiento. Las dosis y programas eficaces para administrar composiciones farmacéuticas que comprenden anticuerpos anti-IL-4R pueden determinarse empíricamente; por ejemplo, el progreso del paciente puede controlarse mediante evaluaciones periódicas y ajustarse la dosis en consecuencia. Además, el ajuste de dosis entre especies se puede realizar usando métodos bien conocidos en la técnica (*p. ej.*, Mordenti et al., 1991, Pharmaceut. Res. 8:1351).

Se conocen diversos sistemas de administración y pueden utilizarse para administrar las composiciones farmacéuticas presentadas en la invención, *p. ej.*, encapsulación en liposomas, micropartículas, microcápsulas, células recombinantes capaces de expresar los virus mutantes, endocitosis mediada por receptores (véase, *p. ej.*, Wu et al., 1987, J. Biol. Chem. 262:4429-4432). Métodos de administración incluyen, pero no se limitan a las vías intradérmica, intramuscular, intraperitoneal, intravenosa, subcutánea, intranasal, intratraqueal, epidural y oral. La composición se

puede administrar por cualquier vía conveniente, por ejemplo mediante infusión o inyección en bolo, mediante absorción a través de revestimientos epiteliales o mucocutáneos (p. ej., mucosa oral, mucosa rectal e intestinal, etc.) y se puede administrar junto con otros agentes biológicamente activos.

5 Una composición farmacéutica de la invención se puede administrar por vía subcutánea o intravenosa con una aguja y jeringa estándares. Además, con respecto a la administración subcutánea, un dispositivo de administración en forma de pluma tiene fácilmente aplicaciones para administrar una composición farmacéutica de la invención. Un dispositivo de suministro en forma de pluma de este tipo puede ser reutilizable o desechable. Un dispositivo de administración en forma de pluma reutilizable utiliza generalmente un cartucho reemplazable que contiene una composición farmacéutica. Una vez que se ha administrado toda la composición farmacéutica dentro del cartucho y el cartucho está vacío, el cartucho vacío se puede desechar fácilmente y reemplazar por un cartucho nuevo que contiene la composición farmacéutica. Entonces se puede reutilizar el dispositivo de administración en forma de pluma. En un dispositivo de administración en forma de pluma desechable, no hay ningún cartucho reemplazable. Más bien, el dispositivo de administración en forma de pluma desechable viene precargado con la composición farmacéutica mantenida en un depósito dentro del dispositivo. Una vez que se vacía el depósito de la composición farmacéutica, se desecha todo el dispositivo.

Numerosos dispositivos de administración en forma de pluma y autoinyectores reutilizables tienen aplicaciones en la administración subcutánea de una composición farmacéutica de la invención. Los ejemplos incluyen, Ejemplos incluyen, pero no se limitan a AUTOPEN™ (Owen Mumford, Inc., Woodstock, Reino Unido), pluma DISETRONIC™ (Disetronic Medical Systems, Bergdorf, Suiza), pluma HUMALOG MIX 75/25™, pluma HUMALOG™, pluma HUMALIN 70/30™ (Eli Lilly and Co., Indianapolis, IN), NOVOPEN™ I, II y III (Novo Nordisk, Copenhagen, Dinamarca), NOVOPEN JUNIOR™ (Novo Nordisk, Copenhagen, Dinamarca), pluma BD™ (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ), OPTIPEN™, OPTIPEN PRO™, OPTIPEN STARLET™ y OPTICLIK™ (sanofi-aventis, Frankfurt, Alemania), por nombrar solo unos pocos. Ejemplos de dispositivos de administración en forma de pluma desechables que tienen aplicaciones en la administración subcutánea de una composición farmacéutica de la presente invención incluyen, pero no se limitan a la pluma SOLOSTAR™ (sanofi-aventis), la pluma FLEXPEN™ (Novo Nordisk) y la pluma KWIKPEN™ (Eli Lilly), el autoinyector SURECLICK™ (Amgen, Thousand Oaks, CA), la pluma PENLET™ (Haselmeier, Stuttgart, Alemania), la pluma EPIPEN (Dey, L.P.) y la pluma HUMIRA™ (Abbott Labs, Abbott Park IL), por nombrar solo unos pocos.

Para la administración directa a los senos nasales, las composiciones farmacéuticas de la invención se pueden administrar utilizando, p. ej., un microcatéter (p. ej., un endoscopio y un microcatéter), un aerosol, un dispensador de polvo, un nebulizador o un inhalador. Los métodos incluyen la administración de un antagonista de IL-4R a un sujeto que lo necesite, en una formulación en aerosol. Por ejemplo, se pueden administrar anticuerpos en aerosol contra IL-4R para tratar el asma en un paciente. Los anticuerpos en aerosol se pueden preparar como se describe, por ejemplo, en el documento US8178098.

En determinadas situaciones, la composición farmacéutica se puede administrar en un sistema de liberación controlada. Opcionalmente, se puede utilizar una bomba (véase Langer, supra; Sefton, 1987, CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 14:201). Opcionalmente, se pueden utilizar materiales poliméricos; véase Medical Applications of Controlled Release, Langer y Wise (eds.), 1974, CRC Pres., Boca Raton, Florida. Opcionalmente, se puede colocar un sistema de liberación controlada cerca de la diana de la composición, requiriendo así solo una fracción de la dosis sistémica (véase, p. ej., Goodson, 1984, en Medical Applications of Controlled Release, supra, vol. 2, pp. 115-138). Otros sistemas de liberación controlada se discuten en la revisión de Langer, 1990, Science 249:1527-1533.

Las preparaciones inyectables pueden incluir formas de dosificación para inyecciones intravenosas, subcutáneas, intracutáneas e intramusculares, infusiones por goteo, etc. Estas preparaciones inyectables pueden prepararse mediante métodos conocidos. Por ejemplo, las preparaciones inyectables se pueden preparar, p. ej., disolviendo, suspendiendo o emulsionando el anticuerpo o su sal arriba descrito en un medio acuoso estéril o un medio oleoso usado convencionalmente para inyecciones. Como medio acuoso para inyecciones, existen, por ejemplo, solución salina fisiológica, una solución isotónica que contiene glucosa y otros agentes auxiliares, etc., que pueden usarse en combinación con un agente solubilizante apropiado tal como un alcohol (p. ej., etanol), un polialcohol (p. ej., propilenglicol, polietilenglicol), un tensioactivo no iónico [p. ej., polisorbato 80, HCO-50 (aducto de polioxietileno (50 moles) de aceite de ricino hidrogenado)], etc. Como medio oleoso, se emplean, p. ej., aceite de sésamo, aceite de soja, etc., que pueden utilizarse en combinación con un agente solubilizante tal como benzoato de bencilo, alcohol bencílico, etc. La inyección así preparada se envasa preferiblemente en una ampolla adecuada.

Ventajosamente, las composiciones farmacéuticas para uso oral o parenteral arriba descritas se preparan en formas de dosificación en una dosis unitaria adecuada para adaptarse a una dosis de los ingredientes activos. Formas de dosificación de este tipo en dosis unitarias incluyen, por ejemplo, comprimidos, píldoras, cápsulas, inyecciones (ampollas), supositorios, etc.

Composiciones farmacéuticas ejemplares que comprenden un anticuerpo anti-IL-4R que pueden utilizarse en el contexto de la invención se describen p. ej., en la Publicación de Solicitud de Patente de EE.UU. N° 2012/0097565.

65

Dosificación

La cantidad de antagonista de IL-4R (*p. ej.*, anticuerpo anti-IL-4R) administrada a un sujeto es, generalmente, una cantidad terapéuticamente eficaz. Tal como se utiliza en esta memoria, la expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" significa una cantidad de antagonista de IL-4R que da como resultado uno o más de: (a) una reducción en la incidencia de exacerbaciones del asma; (b) una mejora en uno o más parámetros asociados con el asma (como se define en otra parte de esta memoria); y/o (c) una mejora detectable en uno o más síntomas o indicios de una afección inflamatoria de las vías respiratorias superiores. Una "cantidad terapéuticamente eficaz" también incluye una cantidad de antagonista de IL-4R que inhibe, previene, disminuye o retrasa la progresión del asma en un sujeto.

En el caso de un anticuerpo anti-IL-4R, una cantidad terapéuticamente eficaz puede ser de aproximadamente 0,05 mg a aproximadamente 600 mg, *p. ej.*, aproximadamente 0,05 mg, aproximadamente 0,1 mg, aproximadamente 1,0 mg, aproximadamente 1,5 mg, aproximadamente 2,0 mg, aproximadamente 3,0 mg, aproximadamente 5,0 mg, aproximadamente 7,0 mg, aproximadamente 10 mg, aproximadamente 20 mg, aproximadamente 30 mg, aproximadamente 40 mg, aproximadamente 50 mg, aproximadamente 60 mg, aproximadamente 70 mg, aproximadamente 80 mg, aproximadamente 90 mg, aproximadamente 100 mg, aproximadamente 110 mg, aproximadamente 120 mg, aproximadamente 130 mg, aproximadamente 140 mg, aproximadamente 150 mg, aproximadamente 160 mg, aproximadamente 170 mg, aproximadamente 180 mg, aproximadamente 190 mg, aproximadamente 200 mg, aproximadamente 210 mg, aproximadamente 220 mg, aproximadamente 230 mg, aproximadamente 240 mg, aproximadamente 250 mg, aproximadamente 260 mg, aproximadamente 270 mg, aproximadamente 280 mg, aproximadamente 290 mg, aproximadamente 300 mg, aproximadamente 310 mg, aproximadamente 320 mg, aproximadamente 330 mg, aproximadamente 340 mg, aproximadamente 350 mg, aproximadamente 360 mg, aproximadamente 370 mg, aproximadamente 380 mg, aproximadamente 390 mg, aproximadamente 400 mg, aproximadamente 410 mg, aproximadamente 420 mg, aproximadamente 430 mg, aproximadamente 440 mg, aproximadamente 450 mg, aproximadamente 460 mg, aproximadamente 470 mg, aproximadamente 480 mg, aproximadamente 490 mg, aproximadamente 500 mg, aproximadamente 510 mg, aproximadamente 520 mg, aproximadamente 530 mg, aproximadamente 540 mg, aproximadamente 550 mg, aproximadamente 560 mg, aproximadamente 570 mg, aproximadamente 580 mg, aproximadamente 590 mg o aproximadamente 600 mg, del anticuerpo anti-IL-4R. En determinados casos, se administran 300 mg de un anticuerpo anti-IL-4R.

La cantidad de antagonista de IL-4R contenida en las dosis individuales se puede expresar en términos de miligramos de anticuerpo por kilogramo de peso corporal del paciente (*es decir*, mg/kg). Por ejemplo, el antagonista de IL-4R se puede administrar a un paciente en una dosis de aproximadamente 0,0001 a aproximadamente 10 mg/kg de peso corporal del paciente.

Terapias de Combinación

Los métodos descritos en esta memoria pueden comprender administrar al sujeto uno o más agentes terapéuticos adicionales en combinación con el antagonista de IL-4R. Tal como se utiliza en esta memoria, la expresión "en combinación con" significa que los agentes terapéuticos adicionales se administran antes, después o simultáneamente con la composición farmacéutica que comprende el antagonista de IL-4R. La expresión "en combinación con" incluye opcionalmente la administración secuencial o concomitante de un antagonista de IL-4R y un segundo agente terapéutico. También se describen, pero no forman parte de la presente invención, métodos para tratar el asma o una afección o complicación asociada o para reducir al menos una exacerbación, que comprenden la administración de un antagonista de IL-4R en combinación con un segundo agente terapéutico para una actividad aditiva o sinérgica.

Por ejemplo, cuando se administra "antes" de la composición farmacéutica que comprende el antagonista de IL-4R, el agente terapéutico adicional puede administrarse aproximadamente 72 horas, aproximadamente 60 horas, aproximadamente 48 horas, aproximadamente 36 horas, aproximadamente 24 horas, aproximadamente 12 horas, aproximadamente 10 horas, aproximadamente 8 horas, aproximadamente 6 horas, aproximadamente 4 horas, aproximadamente 2 horas, aproximadamente 1 hora, aproximadamente 30 minutos, aproximadamente 15 minutos o aproximadamente 10 minutos antes de la administración de la composición farmacéutica que comprende el antagonista de IL-4R. Cuando se administra "después" de la composición farmacéutica que comprende el antagonista de IL-4R, el agente terapéutico adicional se puede administrar aproximadamente 10 minutos, aproximadamente 15 minutos, aproximadamente 30 minutos, aproximadamente 1 hora, aproximadamente 2 horas, aproximadamente 4 horas, aproximadamente 6 horas, aproximadamente 8 horas, aproximadamente 10 horas, aproximadamente 12 horas, aproximadamente 24 horas, aproximadamente 36 horas, aproximadamente 48 horas, aproximadamente 60 horas o aproximadamente 72 horas después de la administración de la composición farmacéutica que comprende el antagonista de IL-4R. La administración "concurrente" con la composición farmacéutica que comprende el antagonista de IL-4R significa que el agente terapéutico adicional se administra al sujeto en una forma de dosificación separada en menos de 5 minutos (antes, después o al mismo tiempo) de la administración de la composición farmacéutica que comprende el antagonista de IL-4R, o se administra al sujeto como una formulación de dosificación única combinada que comprende tanto el agente terapéutico adicional como el antagonista de IL-4R.

El agente terapéutico adicional puede ser, *p. ej.*, otro antagonista de IL-4R, un antagonista de IL-1 (incluyendo, *p. ej.*, un antagonista de IL-1 como se recoge en la patente de EE.UU. Nº 6.927.044), un antagonista de IL-6R (incluyendo,

p. ej., un anticuerpo anti-IL-6R como se recoge en la patente de EE.UU. N° 7.582.298), un antagonista de TNF, un antagonista de IL-8, un antagonista de IL-9, un antagonista de IL-17, un antagonista de IL-5, un antagonista de IgE, un antagonista de CD48, un inhibidor de leucotrienos, un agente antifúngico, un NSAID, un agonista beta₂ de acción prolongada (p. ej., salmeterol o formoterol), un corticosteroide inhalado (p. ej., fluticasona o budesonida), un corticosteroide sistémico (p. ej., oral o intravenoso), metilxantina, nedocromil sódico, cromolín sódico o combinaciones de los mismos. Por ejemplo, en determinadas realizaciones, la composición farmacéutica que comprende el antagonista de IL-4R se administra en combinación con una combinación que comprende un agonista beta₂ de acción prolongada y un corticosteroide inhalado (p. ej., fluticasona + salmeterol [p. ej., Advair® (GlaxoSmithKline)]; o budesonida + formoterol [p. ej., Symbicort® (Astra Zeneca)]).

Regímenes de Administración

Se pueden administrar múltiples dosis de un antagonista de IL-4R a un sujeto a lo largo de un período de tiempo definido. Métodos de este tipo comprenden administrar secuencialmente a un sujeto múltiples dosis de un antagonista de IL-4R. Tal como se utiliza en esta memoria, "administrar secuencialmente" significa que cada dosis de antagonista de IL-4R se administra al sujeto en un momento diferente, p. ej., en días diferentes separados por un intervalo predeterminado (p. ej., horas, días, semanas o meses). También se describen, pero no forman parte de la presente invención, métodos que comprenden administrar secuencialmente al paciente una única dosis inicial de un antagonista de IL-4R, seguida de una o más dosis secundarias del antagonista de IL-4R y, opcionalmente, seguida de una o dosis más terciarias del antagonista de IL-4R.

También se describen, pero no forman parte de la invención, métodos que comprenden administrar a un sujeto una composición farmacéutica que comprende un antagonista de IL-4R con una frecuencia de dosificación de aproximadamente cuatro veces por semana, dos veces por semana, una vez por semana, una vez cada dos semanas, una vez cada tres semanas, una vez cada cuatro semanas, una vez cada cinco semanas, una vez cada seis semanas, una vez cada ocho semanas, una vez cada doce semanas o con menos frecuencia siempre que se logre una respuesta terapéutica. En determinados casos que implican la administración de una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo anti-IL-4R, se puede emplear una dosificación una vez a la semana de una cantidad de aproximadamente 75 mg, 150 mg o 300 mg. En otros casos que implican la administración de una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo anti-IL-4R, se puede emplear una dosificación una vez cada dos semanas de una cantidad de aproximadamente 75 mg, 150 mg o 300 mg. En otros casos que implican la administración de una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo anti-IL-4R, se puede emplear una dosificación una vez cada tres semanas de una cantidad de aproximadamente 75 mg, 150 mg o 300 mg. En otros casos que implican la administración de una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo anti-IL-4R, se puede emplear una dosificación una vez cada cuatro semanas de una cantidad de aproximadamente 75 mg, 150 mg o 300 mg. En otros casos que implican la administración de una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo anti-IL-4R, se puede emplear una dosificación una vez cada cinco semanas de una cantidad de aproximadamente 75 mg, 150 mg o 300 mg. En otros casos que implican la administración de una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo anti-IL-4R, se puede emplear una dosificación una vez cada seis semanas de una cantidad de aproximadamente 75 mg, 150 mg o 300 mg. En otros casos que implican la administración de una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo anti-IL-4R, se puede emplear una dosificación una vez cada ocho semanas de una cantidad de aproximadamente 75 mg, 150 mg o 300 mg. En otros casos que implican la administración de una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo anti-IL-4R, se puede emplear una dosificación una vez cada doce semanas de una cantidad de aproximadamente 75 mg, 150 mg o 300 mg. Una vía de administración preferida es la subcutánea.

El término "semana" o "semanas" se refiere a un período de $(n \times 7 \text{ días}) \pm 2 \text{ días}$, preferentemente $(n \times 7 \text{ días}) \pm 1 \text{ día}$, más preferentemente $(n \times 7 \text{ días})$, en donde "n" designa el número de semanas, p. ej., 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 12 o más.

Las expresiones "dosis inicial", "dosis secundarias" y "dosis terciarias" se refieren a la secuencia en el tiempo de administración del antagonista de IL-4R. Por tanto, la "dosis inicial" es la dosis que se administra al comienzo del régimen de tratamiento (a la que también se alude como "dosis inicial"); las "dosis secundarias" son las dosis que se administran después de la dosis inicial; y las "dosis terciarias" son las dosis que se administran después de las dosis secundarias. Las dosis inicial, secundaria y terciaria pueden contener todas la misma cantidad de antagonista de IL-4R, pero generalmente pueden diferir entre sí en términos de frecuencia de administración. En determinados casos, sin embargo, la cantidad de antagonista de IL-4R contenida en las dosis inicial, secundaria y/o terciaria varía entre sí (p. ej., se ajusta hacia arriba o hacia abajo según sea apropiado) durante el curso del tratamiento. En determinados casos, se administran dos o más (p. ej., 2, 3, 4 o 5) dosis al comienzo del régimen de tratamiento como "dosis de carga", seguidas de dosis posteriores que se administran con menos frecuencia (p. ej., "dosis de mantenimiento"). Opcionalmente, la dosis de mantenimiento puede ser menor que la dosis de carga. Por ejemplo, se pueden administrar una o más dosis de carga de 600 mg de antagonista de IL-4R seguidas de dosis de mantenimiento de aproximadamente 75 mg a aproximadamente 300 mg.

Cada dosis secundaria y/o terciaria se puede administrar de 1 a 14 (p. ej., 1, 1½, 2, 2½, 3, 3½, 4, 4½, 5, 5½, 6, 6½, 7, 7½, 8, 8½, 9, 9½, 10, 10½, 11, 11½, 12, 12½, 13, 13½, 14, 14½, o más) semanas después de la dosis inmediatamente anterior. La expresión "la dosis inmediatamente anterior" significa, en una secuencia de administraciones múltiples,

la dosis de antagonista de IL-4R que se administra a un paciente antes de la administración de la siguiente dosis en la secuencia sin dosis intermedias.

5 Los métodos pueden comprender administrar a un paciente cualquier número de dosis secundarias y/o terciarias de un antagonista de IL-4R. Por ejemplo, en determinados casos, solo se administra al paciente una única dosis secundaria. En otros casos, se administran al paciente dos o más (*p. ej.*, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 o más) dosis secundarias. Igualmente, en determinados casos, solo se administra al paciente una única dosis terciaria. En otros casos, se administran al paciente dos o más (*p. ej.*, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 o más) dosis terciarias.

10 En los casos que implican múltiples dosis secundarias, cada una de las dosis secundarias puede administrarse con la misma frecuencia que las otras dosis secundarias. Por ejemplo, cada una de las dosis secundarias puede administrarse al paciente 1 a 2 semanas después de la dosis inmediatamente anterior. De manera similar, en los casos que impliquen múltiples dosis terciarias, cada una de las dosis terciarias podrá administrarse con la misma frecuencia que las otras dosis terciarias. Por ejemplo, cada una de las dosis terciarias puede administrarse al paciente 2 a 4 semanas después de la dosis inmediatamente anterior. Alternativamente, la frecuencia con la que se administran las dosis secundarias y/o terciarias a un paciente puede variar durante el transcurso del régimen de tratamiento. Un médico también puede ajustar la frecuencia de administración durante el curso del tratamiento dependiendo de las necesidades de cada paciente después del examen clínico.

20 También se describen, pero no forman parte de la invención, métodos que comprenden la administración secuencial de un antagonista de IL-4R y un segundo agente terapéutico a un paciente para tratar el asma o una afección asociada. Opcionalmente, los métodos comprenden administrar una o más dosis de un antagonista de IL-4R seguida de una o más dosis (*p. ej.*, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 o más) de un segundo agente terapéutico. Por ejemplo, se pueden administrar una o más dosis de aproximadamente 75 mg a aproximadamente 300 mg del antagonista de IL-4R después de lo cual se pueden administrar una o más dosis (*p. ej.*, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 o más) de un segundo agente terapéutico (*p. ej.*, un corticosteroide inhalado o un agonista beta2 o cualquier otro agente terapéutico, como se describe en otra parte de esta memoria) para tratar, aliviar, reducir o mejorar uno o más síntomas de asma. Opcionalmente, el antagonista de IL-4R se administra en una o más dosis (*p. ej.*, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 o más), dando como resultado una mejora en uno o más parámetros asociados con el asma seguido de la administración de un segundo agente terapéutico para prevenir la recurrencia de al menos un síntoma de asma. Opciones alternativas pertenecen a la administración concomitante de un antagonista de IL-4R y un segundo agente terapéutico. Por ejemplo, se administran una o más dosis (*p. ej.*, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 o más) de un antagonista de IL-4R y se administra un segundo agente terapéutico en una dosificación separada a una frecuencia similar o diferente en relación con el antagonista de IL-4R. Opcionalmente, el segundo agente terapéutico se administra antes, después o simultáneamente con el antagonista de IL-4R.

35

Poblaciones de Tratamiento

Los métodos descritos en esta memoria pueden comprender administrar a un sujeto que lo necesita una composición terapéutica que comprende un antagonista de IL-4R. La expresión "un sujeto que lo necesita" significa un animal, humano o no humano, que presenta uno o más síntomas o indicios de asma (*p. ej.*, asma eosinofílica, incluyendo asma eosinofílica de moderada a grave), o que ha sido diagnosticado con asma. Por ejemplo, "un sujeto que lo necesita" puede incluir, *p. ej.*, sujetos que, antes del tratamiento, exhiben (o han exhibido) uno o más parámetros asociados con el asma tales como, *p. ej.*, FEV1 alterado (*p. ej.*, menos de 2,0 L), PEF AM alterado (*p. ej.*, menos de 400 L/min), PEF PM alterado (*p. ej.*, menos de 400 L/min), una puntuación ACQ5 de al menos 2,5, al menos 1 despertar nocturno por noche y/o una puntuación SNOT-22 de al menos 20. En diversos casos, los métodos pueden utilizarse para tratar el asma leve, moderada a grave y grave en pacientes que lo necesiten.

Un "sujeto que lo necesita" puede ser un sujeto a quien, antes de recibir un antagonista de IL-4R, se le ha recetado o está tomando actualmente una combinación de corticosteroide inhalado (ICS)/antagonista beta₂-adrenérgico de acción prolongada (LABA). Ejemplos de terapias con ICS/LABA incluyen la terapia combinada de fluticasona/salmeterol y la terapia combinada de budesonida/formoterol. Por ejemplo, la presente divulgación incluye métodos que comprenden administrar un antagonista de IL-4R a un paciente que ha estado tomando un ciclo regular de ICS/LABA durante dos o más semanas inmediatamente antes de la administración del antagonista de IL-4R (a tratamientos previos de este tipo se les alude en esta memoria como "tratamientos de fondo"). La presente divulgación incluye métodos terapéuticos en los que los tratamientos de fondo se interrumpen en el momento de, o justo antes (*p. ej.*, 1 día a 2 semanas antes) de la primera administración del antagonista de IL-4R. Alternativamente, los tratamientos de fondo pueden continuarse en combinación con la administración del antagonista de IL-4R. Opcionalmente, la cantidad del componente ICS, el componente LABA o ambos se reduce gradualmente antes o después del inicio de la administración del antagonista de IL-4R. En algunos casos, la presente divulgación incluye métodos para tratar pacientes con asma persistente durante al menos ≥ 12 meses. Opcionalmente, un paciente con asma persistente puede ser resistente al tratamiento con un agente terapéutico, tal como un corticosteroide, y se le puede administrar un antagonista de IL-4R de acuerdo con los presentes métodos.

Un "sujeto que lo necesita" también puede ser un sujeto con niveles elevados de un biomarcador asociado al asma. Ejemplos de biomarcadores asociados al asma incluyen, pero no se limitan a IgE, quimioquina regulada por activación del timo (TARC, por sus siglas en inglés), eotaxina-3, CEA, YKL-40 y periostina. Un "sujeto que lo necesita" también

65

puede ser un sujeto con eosinófilos en sangre $\geq 300/\mu\text{l}$ o con un nivel de eosinófilos en el esputo $\geq 3\%$. Un "sujeto que lo necesita" también puede ser un sujeto con nivel elevado de inflamación bronquial o de las vías respiratorias medido por la fracción de óxido nítrico exhalado (FeNO).

5 Para los fines de la invención, un nivel normal de IgE en sujetos sanos es inferior a aproximadamente 100 kU/l (*p. ej.*, medido utilizando el ensayo ImmunoCAP® [Phadia, Inc. Portage, MI]). Por lo tanto, la presente divulgación implica métodos que comprenden seleccionar un sujeto que exhibe un nivel elevado de IgE en suero, que es un nivel de IgE en suero mayor que aproximadamente 100 kU/L, mayor que aproximadamente 150 kU/L, mayor que aproximadamente 500 kU/L, mayor que aproximadamente 1000 kU/L, mayor que aproximadamente 1500 kU/L, mayor que aproximadamente 2000 kU/L, mayor que aproximadamente 2500 kU/L, mayor que aproximadamente 3000 kU/L, mayor que aproximadamente 3500 kU/L, mayor que aproximadamente 4000 kU/L, mayor que aproximadamente 4500 kU/L o mayor que aproximadamente 5000 kU/L, y administrar al sujeto una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un antagonista de IL-4R.

15 Los niveles de TARC en sujetos sanos están en el intervalo de 106 ng/L a 431 ng/L, con una media de aproximadamente 239 ng/L. (Un sistema de ensayo ejemplar para medir el nivel de TARC es el kit ELISA cuantitativo TARC ofrecido como Cat. N° DDN00 por R&D Systems, Minneapolis, MN). Por lo tanto, la presente divulgación implica métodos que comprenden seleccionar un sujeto que exhibe un nivel elevado de TARC, que es un nivel de TARC en suero mayor que aproximadamente 431 ng/l, mayor que aproximadamente 500 ng/l, mayor que aproximadamente 1000 ng/l, mayor que aproximadamente 1500 ng/l, mayor que aproximadamente 2000 ng/l, mayor que aproximadamente 2500 ng /L, mayor que aproximadamente 3000 ng/L, mayor que aproximadamente 3500 ng/L, mayor que aproximadamente 4000 ng/L, mayor que aproximadamente 4500 ng/L o mayor que aproximadamente 5000 ng/L, y administrar al sujeto una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un antagonista de IL-4R.

25 La eotaxina-3 pertenece a un grupo de quimioquinas liberadas por las células epiteliales de las vías respiratorias, que está regulada positivamente por las citoquinas Th2 IL-4 e IL-13 (Lilly et al 1999, J. Allergy Clin. Immunol. 104: 786-790). La presente divulgación incluye métodos que comprenden administrar un antagonista de IL-4R para tratar pacientes con niveles elevados de eotaxina-3, tales como más de aproximadamente 100 pg/ml, más de aproximadamente 150 pg/ml, más de aproximadamente 200 pg/ml, más de aproximadamente 300 pg/ml o más de aproximadamente 350 pg/ml. Los niveles séricos de eotaxina-3 pueden medirse, por ejemplo, mediante ELISA.

35 La periostina es una proteína de la matriz extracelular implicada en los procesos inflamatorios mediados por Th2. Se ha descubierto que los niveles de periostina están regulados al alza en pacientes con asma (Jia et al 2012 J Allergy Clin Immunol. 130:647-654.e10. doi: 10.1016/j.jaci.2012.06.025. Epub 1 de agosto de 2012). La presente divulgación incluye métodos que comprenden administrar un antagonista de IL-4R para tratar pacientes con niveles elevados de periostina.

40 El NO exhalado fraccional (FeNO) es un biomarcador de inflamación de los bronquios o de las vías respiratorias. El FeNO es producido por las células epiteliales de las vías respiratorias en respuesta a citoquinas inflamatorias que incluyen IL-4 e IL-13 (Alwing et al 1993, Eur. Respir. J. 6: 1368-1370). Los niveles de FeNO en adultos sanos oscilan entre 2 y 30 partes por billón (ppb). Un ensayo ejemplar para medir FeNO es utilizar un instrumento NIOX de Aerocrine AB, Solna, Suecia. La evaluación podrá realizarse antes de la espirometría y tras un ayuno de al menos una hora. La presente divulgación incluye métodos que comprenden administrar un antagonista de IL-4R a pacientes con niveles elevados de NO exhalado (FeNO) de más de aproximadamente 30 ppb, más de aproximadamente 31 ppb, más de aproximadamente 32 ppb, más de aproximadamente 33 ppb, más de aproximadamente 34 ppb o más de aproximadamente 35 ppb.

50 El antígeno carcinoembriogénico (CEA, por sus siglas en inglés) es un marcador tumoral que se encuentra correlacionado con enfermedades no neoplásicas del pulmón (Marechal et al 1988, Anticancer Res. 8: 677-680). Los niveles de CEA en suero pueden medirse mediante ELISA. La presente divulgación incluye métodos que comprenden administrar un antagonista de IL-4R a pacientes con niveles elevados de CEA, tales como más de aproximadamente 1,0 ng/ml, más de aproximadamente 1,5 ng/ml, más de aproximadamente 2,0 ng/ml, más de aproximadamente 2,5 ng/ml, más de aproximadamente 3,0 ng/ml, más de aproximadamente 4,0 ng/ml o más de aproximadamente 5,0 ng/ml.

55 YKL-40 [llamado así por sus aminoácidos N-terminales tirosina (Y), lisina (K) y leucina (L) y su masa molecular de 40 kD] es una proteína similar a la quitinasa que se encuentra que está regulada positivamente y correlacionada con la exacerbación del asma, IgE y eosinófilos (Tang et al 2010 Eur. Respir. J. 35: 757-760). Los niveles séricos de YKL-40 se miden, por ejemplo, mediante ELISA. La presente divulgación incluye métodos que comprenden administrar un antagonista de IL-4R a pacientes con niveles elevados de YKL-40, tales como más de aproximadamente 40 ng/ml, más de aproximadamente 50 ng/ml, más de aproximadamente 100 ng/ml, más de aproximadamente 150 ng/ml, más de aproximadamente 200 ng/ml o más de aproximadamente 250 ng/ml.

65 Los eosinófilos y neutrófilos del esputo inducidos son marcadores directos bien establecidos de inflamación de las vías respiratorias (Djukanovic et al 2002, Eur. Respir. J. 37: 1S-2S). El esputo se induce con inhalación de solución salina hipertónica y se procesa para recuentos celulares de acuerdo con métodos conocidos en la técnica, por ejemplo, las

directrices de la Sociedad Respiratoria Europea. La presente divulgación incluye métodos que comprenden administrar un antagonista de IL-4R a pacientes con niveles elevados de eosinófilos en el esputo, tales como más de aproximadamente 2,5 % o más de aproximadamente 3 %.

5 Métodos para Evaluar los Parámetros Farmacodinámicos Asociados al Asma

La presente divulgación también incluye métodos para evaluar uno o más parámetros farmacodinámicos asociados al asma en un sujeto que lo necesita, provocados por la administración de una composición farmacéutica que comprende un antagonista del receptor de interleuquina-4 (IL-4R). Una reducción en la incidencia de una exacerbación del asma (como se describió arriba) o una mejora en uno o más parámetros asociados al asma (como se describió arriba) puede correlacionarse con una mejora en uno o más parámetros farmacodinámicos asociados al asma; sin embargo, una correlación de este tipo no necesariamente se observa en todos los casos.

Ejemplos de "parámetros farmacodinámicos asociados al asma" incluyen, por ejemplo, los siguientes: (a) niveles de expresión de biomarcadores; (b) análisis de proteínas y ARN séricos; (c) niveles inducidos de eosinófilos y neutrófilos en el esputo; (d) óxido nítrico exhalado (FeNO); y (e) recuento de eosinófilos en sangre. Una "mejora en un parámetro farmacodinámico asociado al asma" significa, por ejemplo, una disminución desde el inicio de uno o más biomarcadores, tales como TARC, eotaxina-3 o IgE, una disminución de los eosinófilos o neutrófilos en el esputo, FeNO o recuento de eosinófilos en sangre. Tal como se utiliza en esta memoria, la expresión "valor inicial", con respecto a un parámetro farmacodinámico asociado al asma, significa el valor numérico del parámetro asociado al asma para un paciente antes o en el momento de la administración de una composición farmacéutica presentada en la invención.

Para evaluar un parámetro farmacodinámico asociado al asma, el parámetro se cuantifica al inicio y en un momento posterior a la administración de la composición farmacéutica de la presente invención. Por ejemplo, un parámetro farmacodinámico asociado al asma puede medirse el día 1, día 2, día 3, día 4, día 5, día 6, día 7, día 8, día 9, día 10, día 11, día 12, día 14, o en la semana 3, semana 4, semana 5, semana 6, semana 7, semana 8, semana 9, semana 10, semana 11, semana 12, semana 13, semana 14, semana 15, semana 16, semana 17, semana 18, semana 19, semana 20, semana 21, semana 22, semana 23, semana 24, o más, después del tratamiento inicial con una composición farmacéutica de la presente invención. La diferencia entre el valor del parámetro en un momento particular después del inicio del tratamiento y el valor del parámetro al inicio del tratamiento se utiliza para establecer si ha habido un cambio tal como una "mejora" en el parámetro farmacodinámico asociado al asma (p. ej., un aumento o una disminución, según sea el caso, dependiendo del parámetro específico que se esté midiendo).

Opcionalmente, la administración de un antagonista de IL-4R a un paciente provoca un cambio tal como una disminución o un aumento, en la expresión de un biomarcador particular. Biomarcadores asociados al asma incluyen los siguientes: (a) IgE total; (b) timo y quimioquina regulada por activación (TARC); (c) YKL-40; y (d) antígeno carcinoembrionario (CEA, también conocido como molécula de adhesión celular 5 de CEA [CEACAM5]) en suero y (e) eotaxina-3 en plasma. Por ejemplo, la administración de un antagonista de IL-4R a un paciente con asma puede provocar una o más de una disminución en los niveles de TARC o eotaxina-3, o una disminución en los niveles de IgE sérica total. La disminución se puede detectar en la semana 1, semana 2, semana 3, semana 4, semana 5 o más después de la administración del antagonista de IL-4R. La expresión de biomarcadores se puede ensayar mediante métodos conocidos en la técnica. Por ejemplo, los niveles de proteína se pueden medir mediante ELISA (ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas) o los niveles de ARN se pueden medir mediante transcripción inversa acoplada a la reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR).

La expresión de biomarcadores, como se comentó anteriormente, se puede ensayar mediante la detección de proteínas o ARN en suero. Las muestras de suero también se pueden utilizar para controlar biomarcadores de proteínas o ARN adicionales relacionados con la respuesta al tratamiento con un antagonista de IL-4R, señalización de IL-4/IL-13, asma, atopia o enfermedades eosinofílicas (p. ej., midiendo IL-4R α soluble, IL-4, IL-13, periostina). Opcionalmente, se utilizan muestras de ARN para determinar los niveles de ARN (análisis no genético), p. ej., niveles de ARN de biomarcadores; y en otros casos se utilizan muestras de ARN para la secuenciación del transcriptoma (p. ej., análisis genético).

55 EJEMPLOS

Se han hecho esfuerzos para garantizar la precisión con respecto a los números utilizados (p. ej., cantidades, temperatura, etc.), pero se deben tener en cuenta algunos errores y desviaciones experimentales. A menos que se indique lo contrario, las partes son partes en peso, el peso molecular es el peso molecular promedio, la temperatura está en grados centígrados y la presión es atmosférica o cercana a la atmosférica.

Ejemplo 1. Generación de Anticuerpos Humanos contra IL-4R Humano

Se generaron anticuerpos anti-hIL-4R humanos como se describe en la patente de EE.UU. Nº 7.608.693. La Tabla 1 recoge los identificadores de secuencia para los pares de secuencias de aminoácidos de la región variable de las

cadena pesada y ligera, y secuencias de aminoácidos de CDR, de anticuerpos anti-IL-4R seleccionados y sus correspondientes designaciones de anticuerpos.

Tabla 1

Designación de Anticuerpo	SEQ ID NOS:							
	HCVR	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCVR	LCDR1	LCDR2	LCDR3
H1H095-a	2	4	6	8	10	12	14	16
H1H095-b	18	4	6	8	20	12	14	16
H1H095-c	22	4	6	8	24	12	14	16
H1H097-a	26	28	30	32	34	36	38	40
H1H097-b	42	28	30	32	44	36	38	40
H1H097-c	46	28	30	32	48	36	38	40
H1H093-a	50	52	54	56	58	60	62	64
H1H093-b	66	52	54	56	68	60	62	64
H1H093-c	70	52	54	56	72	60	62	64
H1H093-d	74	76	78	80	82	84	86	88
H1H093-e	90	76	78	80	92	84	86	88
H1H093-f	94	76	78	80	96	84	86	88
H1H094-a	98	100	102	104	106	108	110	112
H1H094-b	114	100	102	104	116	108	110	112
H1H094-c	118	100	102	104	120	108	110	112
H1H096-a	122	124	126	128	130	132	134	136
H1H096-b	138	124	126	128	140	132	134	136
H1H096-c	142	124	126	128	144	132	134	136
H1H098-a	146	148	150	152	154	156	158	160
H1H098-b	162	148	150	152	164	156	158	160
H1H098-c	166	148	150	152	168	156	158	160
H1H099-a	170	172	174	176	178	180	182	184
H1H099-b	186	172	174	176	188	180	182	184
H1H099-c	190	172	174	176	192	180	182	184
H4H083-a	194	196	198	200	202	204	206	208
H4H083-b	210	196	198	200	212	204	206	208
H4H083-c	214	196	198	200	216	204	206	208
H4H121-a	218	220	222	224	226	228	230	232
H4H121-b	234	220	222	224	236	228	230	232
H4H121-c	238	220	222	224	240	228	230	232
H4H118-a	242	244	246	248	250	252	254	256
H4H118-b	258	244	246	248	260	252	254	256
H4H118-c	262	244	246	248	264	252	254	256

5 El antagonista de IL-4R ejemplar utilizado en los siguientes Ejemplos es el anticuerpo anti-IL-4R humano designado en la Tabla 1 como H1H098-b (al que también se alude en esta memoria como "mAb1").

10 **Ejemplo 2: Ensayo Clínico de Anticuerpo Anti-IL-4R (mAb1) Administrado por Vía Subcutánea En Pacientes con Asma Eosinofílica Persistente de Moderada a Grave, Incluyendo Pacientes con Asma y Sinusitis Eosinofílica Hiperplásica Crónica**

A. Objetivos del Estudio y Descripción General

Se llevó a cabo un estudio aleatorizado, controlado con placebo, doble ciego y de grupos paralelos con la administración subcutánea una vez a la semana de 300 mg de mAb1 o placebo durante 12 semanas a pacientes con asma eosinofílica persistente de moderada a grave que estaban parcialmente controlados/no controlados con corticosteroides inhalados (ICS) y terapia con agonistas beta2 de acción prolongada (LABA). El objetivo principal del estudio fue investigar los efectos de mAb1 administrado por vía subcutánea una vez a la semana durante 12 semanas en comparación con placebo para reducir la incidencia de exacerbaciones del asma en pacientes con asma eosinofílica persistente de moderada a grave. Los objetivos secundarios del estudio fueron evaluar la seguridad y tolerabilidad de mAb1 administrado por vía subcutánea una vez a la semana durante 12 semanas en pacientes con asma eosinofílica persistente de moderada a grave, y evaluar las concentraciones séricas de mAb1 después de una dosis subcutánea una vez a la semana durante 12 semanas en pacientes con asma eosinofílica persistente de moderada a grave.

Antes de la evaluación, los pacientes debían recibir una dosis estable de cualquiera de las siguientes dosis y formulaciones de terapia combinada ICS/LABA (también denominada "terapia de fondo") durante al menos 1 mes:

Terapia combinada de fluticasona/salmeterol

- Advair® Diskus - inhalador de polvo seco (DPI, por sus siglas en inglés): 250/50 ug BID o 500/50 ug BID; o
- Advair® HFA - inhalador de dosis medida (MDI, por sus siglas en inglés): 230/42 ug BID o 460/42 ug BID; o

Terapia combinada de budesonida/formoterol (Symbicort® 160/9 ug BID o 320/9 ug BID); o
 Terapia combinada de mometasona/formoterol (Dulera® 200/10 ug BID o 400/10 ug BID)

Los pacientes que estaban tomando budesonida/formoterol o mometasona/formoterol fueron cambiados a una dosis equivalente de fluticasona/salmeterol en el momento de la aleatorización (Día 1) y los pacientes que habían estado tomando fluticasona/salmeterol permanecieron con la misma terapia de fondo.

Los pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión y exclusión (véase más adelante) fueron asignados al azar a uno de los siguientes tratamientos: 300 mg de mAb1 administrados por vía subcutánea una vez a la semana durante 12 semanas; o placebo administrado por vía subcutánea una vez a la semana durante 12 semanas.

El estudio comprendió un período de selección de 2 semanas, un período de tratamiento de 12 semanas que comprendía una fase estable de la terapia de fondo de 4 semanas y una fase de retirada de la terapia de fondo de 8 semanas después de la aleatorización, seguida de un periodo de seguimiento de 8 semanas después del tratamiento.

Algoritmo para la retirada de la terapia de fondo (ICS/LABA):

Los pacientes permanecieron con la terapia de fondo de fluticasona/salmeterol dos veces al día (BID) durante 4 semanas después de comenzar la terapia complementaria o el tratamiento con 300 mg de mAb1 (o placebo). 4 semanas después de la aleatorización, los pacientes pasaron de la terapia combinada de fluticasona/salmeterol dos veces al día a una dosis equivalente de ICS de fluticasona en monoterapia (que comprende Flovent® Diskus - formulación DPI de 250 ug o 500 ug BID; o Flovent® HFA - formulación MDI de 220 ug o 440 ug BID). Se suspendió el componente LABA (es decir, salmeterol). En visitas posteriores, comenzando con la semana 6, la dosis de fluticasona se redujo aproximadamente un 50%, siempre que el paciente no cumpliera ninguno de los criterios para una exacerbación del asma (como se define más adelante). Si no se produjeron exacerbaciones del asma, la retirada de ICS se realizó de acuerdo con el siguiente esquema de dosificación:

Fase estable de la terapia de fondo	Terapia de fondo con fase de retirada				
	Semana 4	Semana 6	Semana 7	Semana 8	Semana 9
Fluticasona/salmeterol (DPI): 250/50 µg BID	Fluticasona (DPI): 250 µg BID	100 µg BID	50 µg BID	0 µg BID	0 µg BID
Fluticasona/salmeterol (DPI): 500/50 µg BID	Fluticasona (DPI): 500 µg BID	250 µg BID	100 µg BID	50 µg BID	0 µg BID
Fluticasona/salmeterol (MDI): 230/42 µg BID	Fluticasona (MDI): 220 µg BID	110 µg BID	44 µg BID	0 µg BID	0 µg BID
Fluticasona/salmeterol (MDI): 460/42 µg BID	Fluticasona (MDI): 440 µg BID	220 µg BID	110 µg BID	44 µg BID	0 µg BID

Tras completarse 12 semanas de tratamiento con el producto en investigación (o después de la interrupción temprana), los pacientes recibieron su dosis original de fluticasona/salmeterol, budesonida/formoterol o mometasona/formoterol (dosis al inicio del estudio) y albuterol o levalbuterol según fuera necesario para controlar sus síntomas durante 8 semanas adicionales sin la medicación del estudio antes de una evaluación final de seguridad.

Los pacientes adultos se incluyeron en el estudio de acuerdo con los siguientes criterios: (1) diagnóstico médico de asma persistente durante al menos ≥ 12 meses basado en las pautas de la Iniciativa Global para el Asma (GINA) de 2009, cuya inflamación de las vías respiratorias probablemente sea eosinófila; y (2) cuyo asma está parcialmente controlada o no controlada en la terapia combinada de corticosteroides inhalados/beta-agonistas de acción prolongada de acuerdo con los siguientes criterios: (i) dosis estable de la terapia combinada de fluticasona/salmeterol (formulación DPI: 250/50 μg BID o 500/50 μg BID o formulación de MDI: 230/42 μg BID o 460/42 μg BID), o terapia combinada de budesonida/formoterol (160/9 μg BID o 320/9 μg BID), o terapia combinada de mometasona/formoterol (200/10 μg BID o 400/10 μg BID) durante al menos 1 mes antes de la detección; (ii) eosinófilos en sangre ≥ 300 células/ μl o eosinófilos en esputo $\geq 3\%$ durante la fase de detección; (iii) puntuación del cuestionario de control del asma de Juniper (versión de 5 preguntas, ACQ) de $\geq 1,5$ y $\leq 3,0$ en el momento de la detección; (iv) FEV1 $\geq 50\%$ del valor normal predicho durante la fase de detección (3 intentos como máximo) y el día de aleatorización antes de la primera dosis (3 intentos como máximo); (v) ha recibido dentro de los 2 años anteriores a la detección un tratamiento con una o más dosis de esteroides sistémicos (orales y/o parenterales) para el empeoramiento del asma o una hospitalización o una visita de atención de emergencia para el empeoramiento del asma; y (vi) historial documentado de reversibilidad dentro de los 12 meses posteriores a la detección que cumpla con el criterio - al menos 12% y 200 mL de FEV1 después de 200 μg a 400 μg (2 a 4 inhalaciones) de albuterol durante la fase de detección (3 intentos como máximo), o antecedentes documentados de una prueba positiva de metacolina (PD20 metacolina ≤ 8 mg) dentro de los 12 meses anteriores a la detección. Se incluyeron en el estudio pacientes con asma moderada a grave parcialmente controlada o no controlada con dosis moderadas a altas de terapia combinada con corticosteroides inhalados y beta agonistas de acción prolongada (ADVAIR[®], SYMBICORT[®] o DULERA[®]) y con eosinófilos en sangre mayores que o iguales a 300 células por microlitro, o eosinófilos en esputo mayores que o iguales al 3% durante la fase de detección.

Los pacientes que cumplieron con todos los criterios de inclusión fueron evaluados de acuerdo con los siguientes criterios de exclusión: (1) pacientes menores de 18 años o mayores de 65 años; (2) valores de laboratorio anormales clínicamente relevantes que sugieren una enfermedad desconocida y que requieren una evaluación adicional; (3) enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD) y/u otras enfermedades pulmonares que afecten a los ensayos de función pulmonar; (4) pacientes que requieren bloqueadores de los receptores beta-adrenérgicos por cualquier motivo; (5) fumador actual o dejar de fumar dentro de los 6 meses anteriores a la detección; (6) tabaquismo previo con antecedentes de tabaquismo > 10 paquetes de cigarrillos-año; (7) hospitalización o visita de atención de emergencia debido a una exacerbación del asma en los 2 meses anteriores a la detección; (8) planea comenzar la inmunoterapia con alérgenos dentro del período del estudio; (9) exposición a otro anticuerpo en investigación dentro de un período de tiempo anterior a la detección que sea inferior a 5 semividas del anticuerpo pero no menos de 30 días, o si se desconoce la semivida del anticuerpo, entonces un período de tiempo anterior a una detección de al menos 6 meses; (10) inscripción previa en el estudio actual; (11) el paciente era el investigador, su familiar o un empleado del sitio de investigación; (12) incumplimiento conocido o sospechado, abuso de alcohol o drogas; (13) incapacidad de seguir los procedimientos del estudio (p. ej., debido a problemas de lenguaje o trastornos psicológicos); (14) inversión del patrón de sueño (p. ej., trabajador del turno de noche); (15) tratamiento con fármacos que se sabe que prolongan el intervalo QTc; (16) enfermedad(es) grave(s) concomitante(s) para la(s) cual(es) está contraindicado el uso de ICS (p. ej., tuberculosis pulmonar activa o inactiva) o LABA (p. ej., diabetes, enfermedades cardiovasculares, hipertensión, hipertiroidismo, tirotoxicosis, etc.); (17) uso de glucocorticosteroides inyectables o glucocorticosteroides sistémicos orales dentro de los 2 meses anteriores a la detección o más de 3 ciclos dentro de los 6 meses anteriores a la detección; (18) pretratamiento con dosis variables de ICS, solos o en combinación con un controlador no esteroide (distinto de la terapia combinada de fluticasona/salmeterol, terapia combinada de budesonida/formoterol o terapia combinada de mometasona/formoterol); (19) pacientes que reciben medicamentos concomitantes prohibidos (enumerados más adelante); (20) alergia conocida a la doxiciclina o compuestos relacionados; (21) embarazo o intención de quedar embarazada durante el curso del estudio, lactancia materna o falta de voluntad para utilizar un método anticonceptivo eficaz; y (22) antecedentes recientes de una infección parasitaria o viaje a una zona endémica parasitaria dentro de los 6 meses anteriores a la detección.

Los pacientes permanecieron con una dosis constante de la terapia de fondo para el asma durante las primeras cuatro semanas del estudio, después de lo cual la dosis de la terapia de base se redujo gradualmente. Primero, el componente beta agonista de acción prolongada de la terapia de fondo se retiró en la semana 4, y luego la dosis de corticosteroides inhalados se redujo a la mitad cada 2 semanas hasta la semana 12. Los pacientes continuaron con el tratamiento del estudio hasta el final del estudio o hasta que fueron retirados debido a una exacerbación del asma o por cualquier otro motivo.

B. Tratamientos del Estudio

Producto en investigación: Se proporcionó una solución estéril de mAb1 de 150 mg/mL para inyección subcutánea en un vial de vidrio de 5 mL. Cada uno de los viales contenía un volumen extraíble de 2 mL. Se administró una dosis de 300 mg por vía subcutánea en el sitio del estudio una vez a la semana por la mañana durante 12 semanas. Placebo: Se proporcionó placebo estéril para inyección SC en un vial de vidrio de 5 mL del mismo tamaño. Cada uno de los viales contenía un volumen extraíble de 2 mL. Se administró placebo por vía subcutánea en el sitio del estudio una vez a la semana por la mañana durante 12 semanas.

65

No se permitieron los siguientes medicamentos concomitantes durante la duración del estudio: ningún otro esteroide inhalado que no sea la terapia combinada de fluticasona/salmeterol o fluticasona administrada de acuerdo con el protocolo (o budesonida/formoterol o mometasona/formoterol durante el período de detección); esteroides sistémicos u oculares; LABAs distintos del componente salmeterol de la terapia combinada de fluticasona/salmeterol administrados de acuerdo con el protocolo; cualquier otro producto combinado de ICS/LABA distinto de los indicados anteriormente; cualquier agente anticolinérgico inhalado (p. ej., bromuro de ipratropio o tiotropio); metilxantinas (teofilina, aminofilinas); cromonas; terapia anti-IgE; inhibidores de la lipoxigenasa; y antagonistas del receptor de leucotrienos o inhibidores de la síntesis de leucotrienos.

C. Eficacia del tratamiento

El criterio de valoración principal de este estudio fue la aparición de una exacerbación del asma definida por cualquiera de los siguientes: (1) una reducción del 30 % o más desde el valor inicial en el flujo espiratorio pico (PEF) matutino en dos días consecutivos; o (2) seis o más inhalaciones adicionales de albuterol o levalbuterol en un período de 24 horas (en comparación con el valor inicial) en 2 días consecutivos; o (3) deterioro del asma, de acuerdo con lo determine el investigador, que requiera: (a) tratamiento con esteroides sistémicos (orales y/o parenterales), o (b) un aumento de ICS \geq 4 veces la última dosis recibida antes de la interrupción del tratamiento. estudio, o (c) hospitalización.

Los criterios de valoración secundarios del estudio incluyeron cambios medios desde el inicio de los siguientes parámetros: (1) volumen espiratorio forzado en 1 segundo (FEV1) en litros medidos en cada visita; (2) tasa de flujo espiratorio pico matutino y vespertino (PEF AM y PEF PM) en litros/minuto medido diariamente; (3) uso diario de Albuterol/Levalbuterol en inhalaciones/día; (4) puntuación del Cuestionario de Control del Asma de cinco puntos (ACQ5) en cada visita; y (5) despertares nocturnos (nº de veces por noche) medidos diariamente y (6) una prueba de resultados sinonasales de 22 puntos (SNOT-22), evaluado al inicio y al final del tratamiento (en la semana 12), para evaluar síntomas de las vías respiratorias superiores. Los criterios de valoración secundarios también incluyeron la proporción de pacientes con un evento de asma compuesto definido por una reducción del 30 % o más desde el inicio en el PEF matutino en dos días consecutivos junto con \geq 6 inhalaciones adicionales de albuterol o levalbuterol en un período de 24 horas en comparación con el inicio en 2 días consecutivos. El PEF, el ACQ5, las puntuaciones de los síntomas del asma, los despertares nocturnos y el uso de medicamentos de alivio se registraron en un diario electrónico. Se promediaron los despertares nocturnos diarios medios, que oscilaban entre 0-10, de los 7 días anteriores. Las puntuaciones de los síntomas de asma matutinos y vespertinos consistieron en un resultado no validado informado por el paciente evaluado en una escala tipo Likert de 5 puntos, en donde las puntuaciones más altas indicaban peores resultados (Tabla 2). Los pacientes registraron las puntuaciones generales de los síntomas dos veces al día antes de medir el PEF. Los datos se describen como el promedio de los 7 días anteriores al momento especificado (véanse, p. ej., las Figuras 26A y 26B).

Tabla 2: Evaluación de la Puntuación de los Síntomas de Asma

A) Puntuación de los síntomas matutinos:	
0	= Sin síntomas de asma, durmió toda la noche
1	= Durmió bien, pero algunas quejas por la mañana. Sin despertares nocturnos
2	= Se despertó una vez debido al asma (incluido el despertar temprano)
3	= Se despertó varias veces debido al asma (incluido el despertar temprano)
4	= Mala noche, despierto la mayor parte de la noche debido al asma
B) Puntuación de síntomas vespertinos:	
0	= Muy bien, sin síntomas de asma
1	= Un episodio de sibilancias, tos o dificultad para respirar
2	= Más de un episodio de sibilancias, tos o dificultad para respirar sin interferencia de las actividades normales
3	= Sibilancias, tos o dificultad para respirar la mayor parte del día, que interfirieron con hasta cierto punto con actividades normales
4	= Asma muy grave. Incapaz de realizar las actividades diarias como de costumbre.

D. Control de Eventos Adversos

La seguridad se evaluó durante todo el estudio mediante el control de eventos adversos y eventos adversos graves.

Un evento adverso (AE, por sus siglas en inglés) es cualquier suceso médico adverso en un sujeto o sujeto de investigación clínica al que se le administra un producto farmacéutico. Por lo tanto, un AE puede ser cualquier signo desfavorable e involuntario (incluido un hallazgo anormal de laboratorio), síntoma o enfermedad asociado temporalmente con el uso de un medicamento, ya sea que se considere o no relacionado con el medicamento (en investigación). Los AEs también incluyen: cualquier empeoramiento (es decir, cualquier cambio clínicamente

significativo en la frecuencia y/o intensidad) de una afección pre-existente que esté temporalmente asociada con el uso del fármaco del estudio; hallazgos de laboratorio anormales considerados por el investigador como clínicamente significativos; y cualquier acontecimiento médico adverso.

- 5 Un evento adverso grave (SAE, por sus siglas en inglés) es cualquier suceso médico adverso que, en cualquier dosis, provoca la muerte; es potencialmente mortal; requiere hospitalización o prolongación de la hospitalización existente; resulta en una discapacidad/incapacidad persistente o significativa; es una anomalía congénita/defecto de nacimiento; o es un evento médico importante.

10 E. Métodos estadísticos

Para el análisis principal de la proporción de pacientes que experimentaron una exacerbación del asma, se utilizó un modelo de regresión logística para comparar el grupo SAR con placebo. El modelo incluyó términos para el tratamiento y el factor de estratificación (dosis previa de terapia combinada ICS/LABA). El análisis primario se realizó en base a la población por intención de tratar modificada (mITT, por sus siglas en inglés), que incluyó a todos los pacientes aleatorizados que recibieron al menos una dosis del medicamento en investigación (IMP, por sus siglas en inglés). También se utilizó una prueba de chi-cuadrado estratificada para corroborar el análisis primario.

20 Para los criterios de valoración secundarios de eficacia, excepto SNOT-22, el cambio desde el inicio se analizó utilizando un modelo de efectos mixtos con medidas repetidas (MMRM, por sus siglas en inglés). El modelo incluyó el cambio desde los valores iniciales hasta la semana 12 como variables de respuesta y factores (efectos fijos) para el tratamiento, el factor de estratificación, la visita, la interacción tratamiento por visita, el valor inicial y la interacción inicial por visita. Las inferencias estadísticas sobre las comparaciones de tratamientos para el cambio desde el inicio en la semana 12 se derivaron del modelo de efectos mixtos. El cambio desde el inicio en SNOT-22 se analizó utilizando un análisis de covarianza (ANCOVA), y se utilizaron mediciones al final del tratamiento para imputar los datos que faltan. Los efectos farmacodinámicos se evaluaron utilizando modelos MMRM de forma *post hoc*. No se realizaron ajustes por multiplicidad, ya que solo hubo un criterio de valoración y análisis primarios. Las variables de seguridad, incluyendo AEs, parámetros de laboratorio, signos vitales, ECG, observaciones de laboratorio clínico y exámenes físicos, se resumieron utilizando estadísticas descriptivas.

30 Las características demográficas y clínicas se resumieron mediante características descriptivas. Los gráficos de variables secundarias y farmacodinámicas se presentan como cambio medio desde el inicio a lo largo del tiempo con error estándar. La comparación de los efectos del tratamiento de los análisis MMRM se basa en el cambio medio de mínimos cuadrados (intervalos de confianza [CI] del 95 %) desde el inicio en la semana 12.

35 F. Resultados

Los resultados observados con los 104 pacientes aleatorizados (de 491 seleccionados) que completaron o interrumpieron la fase de tratamiento del estudio se resumen a continuación. Todos los pacientes aleatorizados fueron expuestos al tratamiento del estudio y se incluyeron en la población mITT. Las características iniciales fueron similares entre los grupos. Las características demográficas y clínicas también fueron similares entre los dos grupos (Tabla 3). Como se señaló anteriormente, los pacientes fueron tratados con 300 mg de mAb1 subcutáneo una vez a la semana o con placebo. El período de tratamiento del estudio lo completaron el 86,5 % y el 67,3 % de los pacientes con mAb1 y placebo, respectivamente (Figura 25). La causa más común de interrupción fue la falta de eficacia, que fue más frecuente con placebo (21,2 %) que con mAb1 (1,9 %).

Tabla 3. Características Demográficas y Clínicas Iniciales de los Grupos de Tratamiento.*

Variable	Placebo (N = 52)	mAb1 300 mg (N = 52)
Edad (años)	41,6 ± 13,1	37,8 ± 13,2
Sexo masculino, n° (%)	26 (50,0)	26 (50,0)
Raza o grupo étnico, n° (%)		
	Blanca	45 (86,5)
	Negro o afroamericano	5 (9,6)
	Asiático	1 (1,9)
	Otros	1 (1,9)
Índice de masa corporal		
	Media (kg/m ²)	31,3 ± 8,0
	≥ 30, n° (%)	24 (46,2)
Duración del asma (años)	26,9 ± 14,8	24,2 ± 12,6

Variable		Placebo (N = 52)	mAb1 300 mg (N = 52)
Número de exacerbaciones del asma en los 2 años anteriores		1,4 ± 1,3	1,4 ± 1,0
Dosis previa de terapia combinada ICS/LABA, n° (%)			
	Dosis Alta	41 (78,8)	42 (80,8)
	Dosis Baja	11 (21,2)	10 (19,2)
Eosinófilos en sangre ($\times 10^{-9}/l$)		0,47 ± 0,21	0,55 ± 0,19
FEV ₁ (l)		2,54 ± 0,66	2,47 ± 0,65
FEV ₁ (l) (% del valor predicho)		72,0 ± 12,7	72,0 ± 12,6
PEF (l/min)			
	Matutino	406,9 ± 110,7	393,0 ± 101,1
	Vespertino	416,6 ± 116,8	414,6 ± 102,3
Puntuación ACQ5		2,1 ± 0,5	2,1 ± 0,5
Puntuación de los síntomas de asma			
	Matutino	0,73 ± 0,63	0,75 ± 0,81
	Vespertino	1,12 ± 0,73	0,92 ± 0,71
Variable		Placebo (N = 52)	mAb1 300 mg (N = 52)
Despertares nocturnos por día		0,21 ± 0,50	0,44 ± 0,80
SNOT-22		26,2 ± 15,6	30,9 ± 14,8
Inhalaciones de albuterol o levalbuterol/período de 24 horas		2,0 ± 1,8	2,2 ± 2,4
FeNO (ppb)		35,0 ± 27,1	37,6 ± 28,1
TARC (pg/ml)		470,5 ± 204,7	496,1 ± 342,4
Eotaxina-3 (pg/ml)		117,3 ± 349,2	75,4 ± 44,0
IgE (UI/ml)		694,7 ± 1837,8	657,7 ± 1482,3

*Los valores más-menos son medias \pm DE, salvo que se indique lo contrario. ACQ5 designa el Cuestionario de control del asma (versión de 5 preguntas), fracción FeNO de óxido nítrico exhalado, FEV₁, volumen espiratorio forzado en 1 segundo, IgE inmunoglobulina E, volumen espiratorio pico del PEF, SNOT-22, la prueba de resultados sinonasales de 22 puntos,

y timo TARC y quimioquina regulada por activación.

(i) Criterio de Valoración Principal de Eficacia

- 5 La incidencia de exacerbaciones del asma en los grupos de tratamiento con placebo y mAb1 se presenta en la Tabla 4.

Tabla 4: Incidencia de Exacerbaciones de Asma en la población mITT

	Placebo (N = 52)	mAb1 (N = 52)
Pacientes Sin Exacerbaciones de Asma	29 (55,8%)	49 (94,2%)
Pacientes Con Exacerbaciones de Asma	23 (44,2%)	3 (5,8%)
Razón de Momios frente a Placebo (95 % CI)	--	0,077 (0,021, 0,279)

- 10 Hubo un total de 26 exacerbaciones de asma durante el período de tratamiento y ningún paciente fue hospitalizado por exacerbaciones del asma. Hubo 23 pacientes (44,2 %) que experimentaron una exacerbación de asma en el grupo de placebo, mientras que sólo 3 pacientes (5,8 %) experimentaron una exacerbación de asma en el grupo de tratamiento con mAb1. La razón de momios es 0,077 ($p < 0,0001$) y la reducción del riesgo relativo es
- 15 aproximadamente del 87 %.

De las 26 exacerbaciones de asma experimentadas durante este estudio, 9 se consideraron graves, como lo demuestra la necesidad de una intervención inmediata en forma de tratamiento con corticosteroides sistémicos o con corticosteroides inhalados en 4 o más veces la dosis tomada antes del evento. En la Tabla 5 se presenta un resumen de la incidencia de exacerbaciones graves de asma.

5

Tabla 5: Incidencia de Exacerbaciones Graves de Asma en la población MITT

	Placebo (N = 52)	mAb1 (N = 52)
Pacientes Sin Exacerbaciones de Asma	29 (55,8%)	49 (94,2%)
Pacientes Con Exacerbaciones Graves de Asma	8 (15,4%)	1 (1,9%)
Pacientes Sin Exacerbaciones Graves de Asma	15 (28,8%)	2 (3,8%)

Como se muestra en la Tabla 5, se observaron ocho exacerbaciones graves de asma en el grupo de placebo y solo 1 exacerbación grave de asma en el grupo de tratamiento con mAb1. Las 15 exacerbaciones de asma restantes en el grupo de placebo y 2 en el grupo de mAb1 cumplieron con la definición del protocolo de exacerbación basada en la disminución del PEF matutino y/o el aumento del uso de albuterol/levalbuterol. Como se muestra en la Tabla 6, dentro del grupo de tratamiento activo, se observó una mejora sostenida con respecto al valor inicial durante el curso del estudio para todos los parámetros, a pesar de la retirada de esteroides.

10

15 **Tabla 6. Eventos de Exacerbación**

Resultado	Placebo (N = 52)	mAb1 (N = 52)
Reducción $\geq 30\%$ respecto al valor inicial en el PEF matutino en un período de 24 horas en 2 días consecutivos	10* (19,2)	1 (1,9)
≥ 6 inhalaciones adicionales de albuterol/levalbuterol en un período de 24 horas en 2 días consecutivos	10 (19,2)	1 (1,9)
Tratamiento con esteroides sistémicos	5 (9,6)	1 (1,9)
Aumento ≥ 4 veces de ICS con respecto a la dosis anterior	3 (5,8)	0
Hospitalización	0	0

*4 pacientes con placebo cumplieron tanto con los criterios de PEF y tratamiento con esteroides sistémicos, y 1 paciente con placebo cumplió con PEF y uso adicional de albuterol/levalbuterol.

Con mAb1, el tiempo hasta la exacerbación fue más prolongado (Figura 1) y el riesgo de exacerbación se redujo en relación con el placebo (índice de riesgo 0,10; IC del 95 %: 0,03; 0,34; $P < 0,001$). Un análisis del tiempo transcurrido hasta la exacerbación de asma mediante el gráfico de Kaplan-Meier reveló que el efecto del tratamiento con mAb1 se mantiene a lo largo del tiempo, incluyendo después de 8 semanas, cuando los pacientes tienen un mayor riesgo de desarrollar exacerbaciones debido a la retirada de esteroides (Figura 1).

20

Solo 1 paciente del grupo de placebo tuvo un evento de asma compuesto. Un evento de asma compuesto se define como una reducción del 30 % o más con respecto al valor inicial en el PEF matutino en 2 días consecutivos junto con ≥ 6 inhalaciones adicionales de albuterol o levalbuterol en un período de 24 horas (en comparación con el valor inicial) en 2 días consecutivos.

25

(ii) Otros Criterios de Valoración de Eficacia

Se evaluaron los parámetros de función pulmonar (FEV1, AM PEF y PM PEF), criterios de valoración basados en los síntomas del asma (puntuación ACQ, despertares nocturnos) y el uso de albuterol para cada uno de los pacientes en cada visita. Los resultados observados para estos parámetros (cambio semanal desde el inicio) se muestran en las Figuras 2-7, respectivamente. Además, se evaluó la puntuación SNOT-22 al inicio y al final del tratamiento. Para todos los parámetros, los valores medios iniciales y de la Semana 12 (LOCF) junto con la diferencia media entre los grupos de tratamiento (modelo ANOVA para SNOT-22) se resumen en la Tabla 7. En la Tabla 7, la columna denominada "Diferencia frente a Placebo" refleja el valor corregido con placebo desde el inicio que tiene en cuenta los cambios que se observan en el valor del parámetro en comparación con los cambios que se observaron para ese parámetro en el grupo tratado con placebo.

35

40 **Tabla 7: Parámetros Secundarios de la Función Pulmonar y Puntuaciones de los Síntomas**

	N	Media Inicial (DE)	Cambio Medio de Mínimos Cuadrados (DE)	Diferencia frente a Placebo	valor p
FEV1 (L)					
Placebo	52	2,54 (0,66)	-0,22 (0,06)	--	
mAb1	52	2,47 (0,65)	0,05 (0,06)	0,27 (0,11, 0,42)	0,0009

	N	Media Inicial (DE)	Cambio Medio de Mínimos Cuadrados (DE)	Diferencia frente a Placebo	valor p
FEV1 (L)					
PEF AM (L/min)					
Placebo	52	406,9 (110,7)	-20,7 (9,1)	--	
mAb1	51	393,0 (101,1)	13,9 (8,8)†	34,6 (10,6, 58,5)	0,0051
PEF PM (L/min)					
Placebo	51	416,6 (116,8)	-18,4 (8,9)†	--	
mAb1	52	414,6 (102,3)	4,3 (8,5)	22,7 (-0,7, 46,0)	0,0567
Uso de Albuterol (Inhalaciones/Día)					
Placebo	52	2,0 (1,8)	0,7 (0,3)	--	
mAb1	50	2,2 (2,4)	-1,3 (0,3)‡	-2,0 (-2,9, -1,2)	<0,0001
Puntuación ACQ					
	N	Media Inicial (DE)	Cambio Medio de Mínimos Cuadrados (DE)	Diferencia frente a Placebo	valor p
Placebo	52	2,08 (0,52)	-0,27 (0,16)	--	
mAb1	52	2,09 (0,46)	-1,00 (0,16)	-0,73 (-1,15, -0,30)	0,0011
Despertares Nocturnos (Nº de veces/noche)					
Placebo	52	0,2 (0,5)	0,1 (0,1)	--	
mAb1	52	0,4 (0,8)	-0,2 (0,1)	-0,2 (-0,5, -0,0)	0,0518
Puntuación Promedio SNOT22					
Placebo	51	26,24 (15,62)	0,23 (2,15)†	--	
mAb1	50	30,92 (14,77)	-8,26 (2,20)‡	-8,49 (-13,96, -3,03)	0,0027
† 51 pacientes con al menos 1 evaluación post-inicio.					
‡ 50 pacientes con al menos 1 evaluación post-inicio.					

5 El tratamiento con mAb1 resultó en un cambio significativo desde el valor inicial en el FEV1 en la Semana 1, que se mantuvo hasta la Semana 12 (Figura 2) a pesar de la retirada de LABA e ICS, con una pequeña disminución en el FEV1 en la Semana 5 coincidiendo con la retirada de LABA. Se observaron mejoras similares en el PEF matutino, pero menos en el PEF vespertino (Figuras 3 y 4). El cambio medio de mínimos cuadrados (LS, por sus siglas en inglés) desde el inicio hasta la semana 12 en el FEV1 fue de -0,22 L para el placebo y de 0,05 L para el grupo de mAb1. ($p = 0,0009$).

10 La puntuación ACQ5 mejoró en ambos grupos de tratamiento en la Semana 1 (Figura 6). Sin embargo, si bien ACQ5 mejoró adicionalmente con mAb1 entre las semanas 1 y 4, el efecto placebo se estabilizó, manteniendo la diferencia hasta la semana 12.

15 Las puntuaciones de los síntomas matutinos aumentaron desde el inicio hasta la semana 12 con placebo. Con mAb1, hubo una disminución inicial que permaneció por debajo del valor inicial hasta la semana 12 (Figura 26A). Se observó un patrón similar (con mayor variabilidad) para las puntuaciones de los síntomas de asma nocturnos (Figura 26B).

20 Los despertares nocturnos se mantuvieron estables en el grupo de placebo hasta la semana 6, luego aumentaron de las semanas 6 a 12. Por el contrario, los despertares nocturnos disminuyeron en el grupo de mAb1 en la semana 1 y se mantuvieron mejorados en comparación con el valor inicial hasta la semana 12 (Figura 7).

Los cambios en el uso de albuterol/levalbuterol (Figura 5) fueron similares a otros criterios de valoración secundarios: una disminución inicial seguida de un retorno al valor inicial con placebo. Con mAb1, la disminución inicial se mantuvo en el tiempo.

25 Hubo una diferencia no significativa al inicio del estudio entre los valores de SNOT-22, con una puntuación media de placebo de 26,24 y una puntuación media de mAb1 de 39,02. En la semana 12, el cambio medio de LS fue un ligero aumento de 0,23 puntos para el grupo de placebo y una disminución (mejora) media de 8,26 puntos para el grupo de mAb1. Esto representó una magnitud de mejora de 8,49 puntos para el grupo mAb1 ($p = 0,0027$).

30

Tabla 8. Criterios de Valoración Secundarios

Resultado	Placebo (N = 52)	mAb1 (N = 52)	Diferencia frente a Placebo (95 % CI)**	Valor de p
Estimación de Kaplan-Meier en 12 semanas	46,0 (31,8, 60,2)	5,8 (0,0, 2,1)	0,10 (0,03 a 0,34)	<0,001
Cambio en las puntuaciones de los síntomas del asma matutinos, desde el inicio hasta la semana 12	0,3 ± 0,1	-0,4 ± 0,1	-0,7 (-0,9 a -0,4)	<0,001
Cambio en las puntuaciones de los síntomas de asma vespertino, desde el inicio hasta la semana 12	0,1 ± 0,1	-0,6 ± 0,1	-0,7 (-0,9 a -0,4)	<0,001

Tabla 9. Cambio Desde el Inicio en la Semana 12 en los Puntos del SNOT-22 Relevantes para la Enfermedad de las Vías Respiratorias Superiores.

Subescala SNOT-22	Cambio Medio de Mínimos Cuadrados ± Error Estándar		Diferencia frente a Placebo (95 % CI)	Valor de p
	Placebo (N = 52)	mAb1 (N = 52)		
Necesita sonarse la nariz	-0,25 ± 0,17*	0,95 ± 0,17t	-0,70 (-1,13, -0,26)	0,002
Obstrucción nasal	-0,20 ± 0,19*	-0,94 ± 0,19t	0,75 (-1,22, -0,28)	0,002
Disminución del sentido del olfato/gusto.	0,04 ± 0,18*	-1,13 ± 0,18t	-1,16 (-1,62, -0,71)	< 0,001

* 51 and t50 pacientes con al menos 1 evaluación post-inicio, respectivamente

5 Para todos los criterios de valoración secundarios, las mediciones de la semana 12 favorecieron el tratamiento con mAb1 y fueron significativas, excepto para el PEF vespertino y los despertares nocturnos (Tablas 7 y 8). También se observaron mejoras significativas con mAb1 para los tres puntos del SNOT-22 relevantes para la enfermedad de las vías respiratorias superiores (Tabla 9)

(iii) Seguridad

10 En general, mAb1 fue seguro y bien tolerado. Los eventos adversos emergentes del tratamiento (TEAEs, por sus siglas en inglés) fueron informados de manera similar por 40 (76,9 %) pacientes tratados con placebo y por 42 (80,8 %) pacientes tratados con mAb1 (Tabla 10). Los TEAEs fueron inespecíficos, generalmente de intensidad leve a moderada, y la mayoría se recuperó al final del estudio. Se observó un aumento en la notificación de los siguientes TEAEs para mAb1 en comparación con placebo: 15 (28,8 %) pacientes con mAb1 y 5 (9,6 %) pacientes con placebo informaron reacciones en el lugar de la inyección; 7 (13,5 %) pacientes con mAb1 y 2 (3,8 %) pacientes con placebo informaron nasofaringitis; 6 (11,5%) pacientes con mAb1 y 3 (5,85) pacientes con placebo informaron dolor de cabeza y 4 (7,7 %) pacientes con mAb1 y 1 (1,9 %) pacientes con placebo informaron náuseas.

Tabla 10. Eventos Adversos.

Acontecimiento adverso	Placebo (N = 52)	mAb1 300 mg (N = 52)
	<i>nº de pacientes (%)</i>	
Cualquier evento adverso	40 (76,9)	42 (80,8)
Cualquier evento adverso grave	3 (5,8)	1 (1,9)
Interrupción del estudio debido a un evento adverso	3 (5,8)	3 (5,8)
Muerte	0	0
AEs más comunes*		
Reacciones en el lugar de la inyección†	5 (9,6)	15 (28,8)
Nasofaringitis	2 (3,8)	7 (13,5)
Infección de las vías respiratorias superiores	9 (17,3)	7 (13,5)
Cefalea	3 (5,8)	6 (11,5)
Náuseas	1 (1,9)	4 (7,7)
Mordedura de artrópodo	0	3 (5,8)
Espasmos musculares	0	3 (5,8)

Acontecimiento adverso	Placebo (N = 52)	mAb1 300 mg (N = 52)
	nº de pacientes (%)	
Congestión nasal	1 (1,9)	3 (5,8)
Sarpullido	1 (1,9)	3 (5,8)
Urticaria	0	3 (5,8)
Infección viral del tracto respiratorio superior	0	3 (5,8)

*≥ 3 pacientes en cualquier grupo de tratamiento por Término Preferido

La reacción en el lugar de la inyección incluye eventos informados como: dolor en el lugar de la inyección, reacción en el lugar de la inyección, eritema en el lugar de la inyección, erupción en el lugar de la inyección, hematoma en el lugar de la inyección, urticaria en el lugar de la inyección, dermatitis en el lugar de la inyección, inflamación en el lugar de la inyección, nódulo en el lugar de la inyección, prurito en el lugar de la inyección e hinchazón en el lugar de la inyección.

5 No se informaron muertes durante el período de estudio. De los 4 eventos adversos graves (SAEs) que surgieron del tratamiento informados: 1 paciente con mAb1 experimentó trastorno bipolar y 3 pacientes con placebo experimentaron SAEs de asma con neumonía, herida de bala con neumotórax izquierdo y fractura de tobillo derecho. Ninguno de estos SAEs se consideró relacionado con el IMP y todos, excepto la reciente fractura de tobillo, se recuperaron al final del estudio. No hubo muertes.

10 Un total de 6 pacientes abandonaron el estudio debido a un TEAE: 3 pacientes del grupo mAb1 (trastorno bipolar, asma con sibilancias y angioedema) y 3 pacientes del grupo de placebo (infección del tracto respiratorio superior, psoriasis y asma). El TEAE del angioedema se produjo en una mujer afroamericana de 42 años después de la novena dosis del tratamiento del estudio como una erupción popular pruriginosa observada en el lugar de la inyección y a distancia del mismo. Persistió durante una semana y se resolvió tras la interrupción del tratamiento del estudio y el tratamiento con prednisoma y difenhidramina. Se consideró relacionado con el tratamiento. Este AE fue posterior a erupciones más leves en el lugar de la inyección después de la primera y sexta dosis de tratamiento del estudio.

15 Entre los AEs más comunes que ocurrieron en ≥ 3 pacientes en cualquier grupo de tratamiento (Tabla 10), las reacciones en el lugar de la inyección, nasofaringitis, náuseas y dolor de cabeza ocurrieron con mayor frecuencia con mAb1 que con placebo. No se informaron cambios clínicamente significativos en los signos vitales, el examen físico, el laboratorio clínico o los hallazgos del ECG en ninguno de los grupos.

20 **G. Conclusión**

25 Se observaron mejoras significativas en la función pulmonar y otros parámetros de control del asma. La eficacia se observó temprana y sostenida a pesar de la retirada del tratamiento de fondo. Se observó una reducción relativa de aproximadamente el 87 % (p < 0,0001) en el criterio de valoración principal de la incidencia de exacerbaciones de asma en pacientes con asma persistente de moderada a grave con eosinofilia después de 12 semanas de tratamiento con 300 mg de mAb1 una vez a la semana (5,8 %) en comparación con placebo (44,2 %). Como se muestra en la Tabla 7, se observaron mejoras clínicamente significativas y estadísticamente significativas (sin ajuste de multiplicidad) con el tratamiento en comparación con placebo en los parámetros de función pulmonar (FEV1, PEF AM), puntuaciones de síntomas de asma (ACQ) y uso de albuterol. Se observaron tendencias positivas para el PEF PM (p = 0,0567) y los despertares nocturnos (p = 0,0518). También se observó una mejora estadísticamente significativa (sin ajuste de multiplicidad) para la puntuación SNOT-22. Dentro del grupo de tratamiento activo, se observó una mejora sostenida con respecto al valor inicial durante el curso del estudio para todos los parámetros, a pesar de la retirada de LABA e ICS. En general, mAb1 fue seguro y bien tolerado.

35 **Ejemplo 3: Estudios de biomarcadores**

40 El análisis de biomarcadores se realizó en muestras tomadas de sujetos que participaron en ensayos clínicos de mAb1 (véase el Ejemplo 2 anterior). En particular, se midieron los biomarcadores séricos/plasmáticos asociados con la inflamación TH2, tales como el timo y la quimioquina de activación (TARC; CCL17), la inmunoglobulina E (IgE), la eotaxina-3, la periostina, el antígeno carcinoembrionario (CEA), YKL-40 y los eosinófilos en sangre. en muestras de pacientes al inicio del estudio y en diferentes momentos posteriores al inicio del tratamiento del estudio. Se evaluaron los niveles iniciales de estos biomarcadores para determinar su posible valor predictivo de la respuesta al tratamiento. Además, se midieron la fracción de NO exhalado (FeNO) y los eosinófilos y neutrófilos del esputo inducido como biomarcadores de inflamación bronquial. La evaluación del óxido nítrico exhalado se realizó antes de la espirometría y después de un ayuno de al menos 1 hora utilizando un instrumento NIOX (Aerocrine AB, Solna, Suecia). Los biomarcadores se analizaron utilizando un modelo mixto y la media de mínimos cuadrados derivada del modelo se informa más adelante.

A los sujetos con asma (N = 104) se les administró mAb1 (300 mg) o placebo por vía subcutánea, los días 1, 8, 15, 22, 29, 36, 43, 50, 57, 64, 71 y 78 del estudio (es decir, 12 dosis semanales) (véase Ejemplo 2 en esta memoria). Se recogieron muestras para el análisis de biomarcadores de los sujetos tratados con anticuerpos y placebo en las semanas 0, 1, 4, 8 y 12. La IgE específica de antígeno se detectó mediante el ensayo Phadiatop®.

TARC, eotaxina-3 e IgE permanecieron sin cambios en respuesta al placebo (Figuras 8, 9 y 10). Por el contrario, una rápida reducción en TARC (% de cambio medio -22,7 % frente a +0,3 %; p = 0,0003) (Figura 8) y eotaxina-3 (% de cambio medio -39,62 % frente a 12,69 %; p < 0,0001) (Figura 9) se observó en el plazo de una semana en pacientes tratados con mAb1 y persistió hasta la semana 12: TARC: -26,0 % frente a +7,6 % de placebo (p = 0,0005); Eotaxina-3: -45,67 % frente a +5,13 % de placebo (p < 0,0001).

Los niveles de TARC respondieron dentro de una semana después de la exposición a 300 mg de mAb1 administrados por vía subcutánea. Los niveles de TARC se estabilizan en aproximadamente el 50 % del nivel inicial en sujetos tratados con mAb1, independientemente de la retirada de ICS. Los datos sugieren que la expresión de TARC está más directamente relacionada con la señalización de IL-4R que los cambios en el FEV1 (que caen en paralelo a la retirada de ICS [después de la semana 4]) y que el bloqueo de IL-4R induce un cambio hacia una firma TH1, como se observa, por ejemplo, con la administración de IFN γ . Podría ser posible titular la dosis de mAb1 utilizando TARC (y, por ejemplo, CXCL10), en particular en pacientes que requieren tratamiento a largo plazo y con riesgo de enfermedades inmunes de tipo TH1.

La IgE sérica total también disminuyó después del tratamiento con mAb1. La respuesta total de IgE sérica fue más heterogénea y tardía en comparación con la respuesta TARC. Los niveles iniciales medios (DE) de IgE fueron 694,68 UI/L (1837,82) para el grupo de placebo (n = 52) y 657,66 (1482,25) para el grupo de mAb1 (n = 52), mientras que la mediana fue 169,95 para el grupo de placebo y 206,15 para el grupo de mAb1. A pesar de esta heterogeneidad, se observó una tendencia hacia una disminución de la IgE en los pacientes expuestos a mAb1 en comparación con el placebo - sin embargo, aunque solo a partir de la semana 4. La IgE sérica se redujo significativamente en el grupo de mAb1 en comparación con el placebo (% de cambio medio, -10,1 % frente a +13,5 %; p = 0,0325) a partir de la semana 4 y continuó disminuyendo hasta la semana 12 (% de cambio medio, -36,8 % para REGN668/SAR231893 frente a -5,5 % para placebo; p < 0,0001) (Figura 10).

Los cambios con respecto al valor inicial y al placebo en la semana 12 para FeNO, TARC, eotaxina-3 e IgE favorecieron a mAb1 (todos P < 0,001) (Tabla 11). No se observaron diferencias con respecto al valor inicial o entre tratamientos en YKL-40 o CEA.

Tabla 11. Cambio Porcentual Desde el Inicio en la Semana 12 en los Criterios de Valoración Farmacodinámicos

Resultado	Porcentaje de Cambio Medio de Mínimos Cuadrados \pm Error Estándar		Valor de p
	Placebo (N = 52)	mAb1 (N = 52)	
FeNO	35,0 \pm 10,8	28,7 \pm 11,2	< 0,001
TARC	7,6 \pm 6,9	-26,0 \pm 6,9	< 0,001
Eotaxina-3	5,1 \pm 4,7	-45,7 \pm 4,7	< 0,001
IgE	5,5 \pm 3,6	-36,8 \pm 3,6	< 0,001
Eosinófilos en sangre	2,7 \pm 15,8	41,6 \pm 15,7	0,078

Hubo una disminución transitoria en los niveles de periostina, seguida de un aumento con la retirada de LABA/ICS (Figura 11). La administración de mAb1 retrasó el aumento, pero no impidió el aumento por encima del valor inicial. No se observó efecto alguno de tratamiento consistente con CEA (Figura 12) e YKL-40 (Figura 13). La cantidad de eosinófilos en sangre permaneció sin cambios durante la semana 6, pero luego aumentó en las semanas 8 y 12 (Figura 14). Los números de eosinófilos en sangre periférica se mantuvieron sin cambios con el placebo durante todo el tratamiento. La diferencia entre los tratamientos no fue significativa, y el aumento límite se debió a mayores elevaciones de eosinófilos en sangre en solo unos pocos pacientes tratados con mAb1. Se observaron aumentos pequeños o nulos en la mayoría de los pacientes (Tabla 12).

Tabla 12. Proporciones de Pacientes que Alcanzaron Umbrales de Cambio en los Niveles de Eosinófilos en Sangre.

Cambio en los eosinófilos	Número (%) de pacientes	
	Placebo (n = 52)	mAb1 (n = 52)
> 15 % Disminución	13 (30,2)	21 (47,7)
15 % Disminución - 0 % cambio	7 (16,3)	6 (13,6)
0 %- 15 % Aumento	8 (18,6)	4 (9,1)
15 % - 100 % Aumento	13 (30,2)	6 (13,6)
100 % - 200 % Aumento	2 (4,7)	3 (6,8)

Cambio en los eosinófilos	Número (%) de pacientes	
	Placebo (n = 52)	mAb1 (n = 52)
> 200 % Aumento	0	4 (9,1)

Debido a que solo 3 pacientes con mAb1 experimentaron una exacerbación de asma durante el estudio, no se pudo sacar conclusión alguna sobre la asociación entre los niveles iniciales de biomarcadores y las exacerbaciones de asma.

5 El tratamiento con mAb1 también se asoció con una disminución significativa desde el inicio en el FeNO en la semana 4, y el FeNo permaneció por debajo del valor inicial hasta la semana 12, independientemente de la retirada de ICS (% de cambio medio en la semana 12: -28,7 para mAb1 frente a 35,0 para placebo; $p < 0,0001$) (Figura 15). Por el contrario, los valores de FeNo del placebo se mantuvieron estables hasta la semana 8, seguidos de un aumento en la semana 12 coincidiendo con la retirada de ICS.

10 La mejora del volumen espiratorio forzado en 1 segundo (FEV₁) se correlacionó significativamente con la reducción de FeNO ($r = -0,408$, $p = 0,009$) en la semana 12 (Figura 16). De manera similar, las mejoras en PEF AM y PEF PM se correlacionaron con la reducción de FeNO (Figuras 17 y 18). Otras correlaciones con FeNO no fueron significativas. Véase la Tabla 13.

Tabla 13. Correlación entre Criterios de Valoración de FEV₁ y PD.

Resultado	Correlación	Valor de p
FeNO	-0,408	< 0,009
TARC	-0,248	0,10
Eotaxina-3	-0,146	0,34
IgE	-0,279	0,06
Eosinófilos en sangre	0,165	0,28

20 El análisis del diagrama de dispersión de los eosinófilos iniciales frente al cambio desde el inicio en el FEV₁ en la semana 12 no pareció sugerir una asociación entre los eosinófilos iniciales y el efecto del tratamiento, medido por el cambio desde el inicio en el FEV₁ en la semana 12 en la población de estudio (eosinófilos iniciales $\geq 0,3$ Giga/L) (Figura 19). Los eosinófilos basales se correlacionaron con una disminución del ACQ (Figura 20) y una disminución del uso de albuterol/levalbuterol (Figura 21). Perioestina e YKL-40 al inicio del estudio se correlacionaron con una disminución del ACQ (Figuras 22 y 23).

25 El cambio del FEV₁ desde el valor inicial en la semana 12 se vio agravado por la retirada de ICS (a partir de la semana 4). Análisis similares no sugirieron una asociación entre TARC o IgE inicial y el cambio desde el inicio en el FEV₁ en la semana 12 en la población de estudio (eosinófilos iniciales $\geq 0,3$ Giga/L).

30 Sumario

Estos resultados demuestran que mAb1 redujo significativamente los biomarcadores séricos asociados con la inflamación Th2 (TARC, eotaxina-3 e IgE) y la inflamación bronquial (FeNO) en pacientes adultos con asma. La correlación entre la reducción de FeNO y la mejora del FEV₁ sugiere una relación entre la actividad antiinflamatoria mediada por IL-4/IL-13 y la mejora de la función pulmonar en el asma no controlada de moderada a grave.

Ejemplo 4: El Bloqueo de la Vía de Señalización IL-4/IL-13 Inhibe la Producción de IgE y la Remodelación de las Vías Respiratorias en un Modelo de Ratón de Asma Eosinofílica inducida por Ácaros del Polvo Doméstico

40 INTRODUCCIÓN

Se ha demostrado que el alérgeno de los ácaros del polvo doméstico (HDM, por sus siglas en inglés) induce la respuesta inmune Th2, incluida una afluencia de células Th2 al pulmón y una migración trans-endotelial de eosinófilos inducida por IL-4 a los pulmones. Los eosinófilos son las células efectoras predominantes en las reacciones alérgicas y la liberación del contenido de los gránulos (incluida la IL-4) de los eosinófilos contribuye a la inflamación. En pacientes asmáticos, la producción de IL-4 impulsada por Th2 fomenta la migración de eosinófilos desde la sangre a los pulmones a través de eotaxina, un potente quimioatrayente de eosinófilos (Mochizuki et al., J. Immunol., 1998, 160(1):60-68). Además, cuando se localizan en el sitio inflamatorio, los eosinófilos producen y secretan IL-4, contribuyendo así a la inflamación continua impulsada por Th2 (Bjerke et al., Respir. Med., 1996, 90(5):271-277). En pacientes con asma alérgica, una exposición a HDM aumentó el nivel de citoquinas IgE y Th2 en suero hasta 5 semanas después de la exposición al alérgeno (van de Pol et al., Allergy, 2012, 67(1):67-73).

En este ejemplo, se utilizó un modelo de asma crónica inducida por HDM para evaluar los efectos farmacodinámicos de los anticuerpos anti-IL-4R sobre marcadores de inflamación de las vías respiratorias en ratones. Además, en este

modelo se evaluaron los efectos de los anticuerpos anti-IL-4R sobre la deposición de colágeno en las vías respiratorias, ya que la deposición de colágeno se correlaciona con el grado de remodelación de las vías respiratorias.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron dos anticuerpos anti-IL-4R diferentes en los experimentos de este Ejemplo: "mAb1", un anticuerpo monoclonal completamente humano específico para IL-4R humano (*es decir*, el anticuerpo anti-IL-4R utilizado en los otros ejemplos de trabajo recogidos en esta memoria); y "anti-mIL-4R", un anticuerpo monoclonal de ratón específico para la proteína IL-4R de ratón. mAb1 no presenta reacción cruzada con IL-4R de ratón; por lo tanto, se evaluó mAb1 en ratones humanizados en los que tanto la IL-4 humana como el ectodominio de IL-4R se modificaron por ingeniería genética para reemplazar sus secuencias murinas correspondientes en los ratones (IL-4^{hu/hu} IL-4R^{hu/hu}). Por otro lado, el anticuerpo de ratón anti-IL-4R de ratón "anti-mIL-4R", se testó en ratones de tipo salvaje (Balb/c). También se testó en estos experimentos una proteína de fusión IL-13R α 2-mFc de ratón que actúa como un receptor señuelo, bloqueando la señalización de IL-13 mediante el secuestro de la citoquina IL-13.

Para el modelo de asma inducida por HDM, los ratones fueron sensibilizados mediante la aplicación intranasal diaria de HDM (50 μ g por ratón en 20 μ L de PBS) durante 10 días, seguido de descanso (período de resolución de 2 semanas). La provocación con alérgenos se administró mediante aplicación intranasal de HDM (50 μ g por ratón en 20 μ L de PBS) tres veces por semana durante 8 semanas. Para cada administración de HDM, ya sea durante el período de sensibilización o de exposición, los ratones fueron anestesiados ligeramente con isoflurano.

Los ratones se aclimataron en las instalaciones experimentales durante un mínimo de 5 días antes de iniciar el proceso experimental. Durante toda la duración del experimento, los animales permanecieron alojados en las instalaciones experimentales en condiciones estándares en un ciclo día/noche de 12 horas con acceso a comida y agua *ad libitum*. El número de ratones por jaula se limitó a un máximo de 5 ratones.

Se modificó por ingeniería genética un total de 48 ratones humanizados en los que el ligando de IL-4 humano y el ectodominio humano de IL-4R fueron modificados por ingeniería genética para reemplazar sus secuencias murinas correspondientes (IL-4^{hu/hu} IL-4R^{hu/hu}) durante dos experimentos. Los ratones IL-4^{hu/hu} IL-4R^{hu/hu} tenían un fondo mixto C57Bl/6NTac (75 %)/129S6SvEvTac(25 %). Además, en uno de los tres experimentos se utilizaron 20 ratones compañeros de camada de tipo salvaje en un entorno mixto idéntico. En cada experimento, los ratones fueron sensibilizados con HDM (o con PBS en el grupo de control) diariamente durante diez días, seguido de un período de resolución desde el día 11 hasta el día 29. A partir del día 30, los animales fueron enfrentados a HDM tres veces por semana durante 8 semanas, hasta el día 81, y luego fueron sacrificados el día 85 para su análisis. Los ratones se dividieron en seis grupos experimentales de la siguiente manera:

- (1) No sensibilizados, no tratados: se aplicó PBS por vía intranasal durante los períodos de sensibilización y enfrentamiento. Los ratones no fueron tratados con anticuerpos (ratones IL-4^{hu/hu} IL-4R^{hu/hu} n = 9; compañeros de camada de tipo salvaje n = 5);
- (2) Sensibilizados con HDM, no tratados: se aplicó HDM por vía intranasal durante los períodos de sensibilización y enfrentamiento. Los ratones no fueron tratados con anticuerpos (ratones IL-4^{hu/hu} IL-4R^{hu/hu} n = 7; compañeros de camada de tipo salvaje n = 5);
- (3) Sensibilizados con HDM, tratados con anti-mIL-4R: se aplicó HDM por vía intranasal durante los períodos de sensibilización y enfrentamiento. A los ratones se les inyectó i.p. anti-mIL-4R en una dosis de 50 mg/kg, dos veces por semana, desde la semana 7 hasta la semana 12, para un total de 12 dosis durante un período de 6 semanas (compañeros de camada de tipo salvaje n = 5);
- (4) Sensibilizados con HDM, tratados con mAb1 anti-humano: se aplicó HDM por vía intranasal durante los períodos de sensibilización y enfrentamiento. A los ratones se les inyectó i.p. mAb1 en una dosis de 50 mg/kg, dos veces por semana, desde la semana 7 hasta la semana 12, para un total de 12 dosis durante un período de 6 semanas (ratones IL-4^{hu/hu} IL-4R^{hu/hu} n = 12);
- (5) Sensibilizados con HDM, tratados con proteína de fusión IL-13R α 2-mFc de ratón: se aplicó HDM por vía intranasal durante los períodos de sensibilización y enfrentamiento. A los ratones se les inyectó i.p. IL-13R α 2-mFc en una dosis de 25 mg/kg, dos veces por semana, desde la semana 7 hasta la semana 12, para un total de 12 dosis durante un período de 6 semanas (ratones IL-4^{hu/hu} IL-4R^{hu/hu} n = 7; compañeros de camada de tipo salvaje n = 5);
- (6) Sensibilizados con HDM, tratados con anticuerpo de control del isotipo: se aplicó HDM por vía intranasal durante los períodos de sensibilización y enfrentamiento. A los ratones se les inyectó i.p. Ab de control del isotipo en una dosis de 50 mg/kg, dos veces por semana, desde la semana 7 hasta la semana 12, para un total de 12 dosis durante un período de 6 semanas (ratones IL-4^{hu/hu} IL-4R^{hu/hu} n = 7).

Los ratones fueron sacrificados el día 85, se recogió sangre para ensayos de nivel de inmunoglobulina en suero y se utilizó pulmón (un lóbulo) para generar i) fluido de lavado broncoalveolar (BAL, por sus siglas en inglés), ii) una muestra de suspensión unicelular digerida para análisis de citometría de flujo, iii) una muestra fijada en formalina para tinción y análisis histológico, o iv) una muestra para análisis utilizando el ensayo de colágeno Sircol™ para cuantificar el contenido de colágeno por lóbulo pulmonar.

El fluido BAL se obtuvo de animales sacrificados exponiendo primero la tráquea e introduciendo un tubo de lavado 23G a través de una pequeña incisión en la pared traqueal. Luego se inyectó PBS estéril (1 mL) en los pulmones y se recuperó el fluido BAL a través del tubo de lavado utilizando una jeringa. Se cargaron 100 µL de BAL en un Cytospin que se hizo girar durante 5 minutos a 500 rpm para extraer las células en portaobjetos de microscopio. Los portaobjetos se secaron y se tiñeron con H & E para visualizar los eosinófilos.

El nivel sérico de IgE se cuantificó utilizando un kit ELISA disponible comercialmente. Brevemente, se incubaron muestras de suero diluidas en serie con anticuerpo de captura anti-IgE en placas de 96 pocillos y la IgE se detectó mediante un anticuerpo secundario anti-IgE de ratón biotinilado. Se utilizó como patrón IgE de ratón purificada marcada con HRP.

Los niveles séricos de IgG1 específica de HDM se cuantificaron mediante ELISA. Brevemente, se incubaron placas recubiertas con HDM con muestras de suero diluidas en serie, seguido de la incubación con anticuerpo anti-ratón conjugado con IgG1-HRP. Los niveles relativos de los niveles séricos de IgG1 se representaron como unidades de título (la DO450 se multiplicó por un factor de dilución requerido para lograr la $DO450 \leq 0,5$). Los lóbulos pulmonares recogidos se congelaron instantáneamente en nitrógeno líquido y se almacenaron a -80 °C hasta la etapa de extracción. Para extraer el colágeno, los pulmones se homogeneizaron en una solución de NaCl/NaHCO₃ helada y se centrifugaron a 9000 xg durante 10 min. Esta etapa se repitió tres veces y el sedimento resultante se digirió con pepsina en ácido acético durante 18 horas a 4 °C. Las muestras se centrifugaron y el sobrenadante se recogió y se mezcló con el reactivo de tinte Sircol para teñir el contenido de colágeno. Las muestras se lavaron con reactivo de lavado ácido-sal para eliminar el tinte Sircol no unido y luego se mezclaron con reactivo alcalino. Se transfirieron 200 µL de cada una de las muestras a una placa de 96 pocillos y se midió la DO a 555 nm. Se utilizó un patrón de colágeno para la cuantificación final del contenido de colágeno en cada una de las muestras.

Se recogieron pulmones de ratones sacrificados y se mantuvieron en medio DMEM completo en hielo hasta su digestión con una mezcla de colagenasa y DNasa en tampón HBSS durante 20 minutos a 37 °C. La actividad de colagenasa se detuvo mediante la adición de EDTA 0,5 M, las muestras se centrifugaron y los glóbulos rojos se lisaron con tampón ACK. Las suspensiones celulares obtenidas para cada una de las muestras se dividieron en tres agrupaciones separadas y se tiñeron con la mezcla de anticuerpos 1 (Ab 1c-APC anti-CD1, Ab anti-SiglecF-PE, Ab anti-F4/80-FITC, Ab anti-CD45-PerCp-Cy5.5) o mezcla 2 (Ab anti-CD11c-APC, Ab anti-CD11b-PerCp-Cy5.5, Ab anti-CD103-FITC, Ab anti-MHCII-PE) o mezcla 3 (Ab anti-CD19-PE Ab, Ab anti-Ly6G-APC, anti-CD3-FITC, Ab anti-CD11b-PerCp-Cy5.5) durante 25 minutos a 4 °C. Las células teñidas se fijaron en solución Cytotfix/Cytoperm durante 30 minutos a 4 °C y se almacenaron en PBS hasta el análisis de citometría de flujo mediante FACSCanto (BD Biosciences).

A partir del modelo crónico de asma eosinofílica (EA) inducido por HDM, se recogieron lóbulos del pulmón izquierdo de 4 ratones por grupo para el análisis de micromatrices de la expresión génica utilizando la tecnología GeneChip®. Los niveles de expresión génica en los ratones que fueron sensibilizados y enfrentados a HDM y luego tratados con un Ab de control del isotipo se compararon con los niveles de expresión génica en ratones que fueron sensibilizados y enfrentados de forma simulada (PBS) y no se sometieron a tratamiento con anticuerpos. El umbral para un cambio en la expresión génica se estableció en >1,5 veces. La población de genes identificada como expresada diferencialmente en ratones que fueron sensibilizados y enfrentados a HDM se analizó posteriormente en el grupo tratado con anti-IL-4Rα en relación con el grupo tratado con control del isotipo. El umbral para un cambio en la expresión génica en el grupo tratado con IL-4Rα-Ab en relación con el grupo tratado con control del isotipo se estableció en > 2 veces.

RESULTADOS

La sensibilización y el enfrentamiento a HDM dieron como resultado niveles elevados de IgE e IgG1 específica de HDM. El aumento de IgE fue bloqueado completamente por los dos Abs anti-IL-4Rα pero no por el tratamiento con IL-13Rα2-Fc (Figuras 27A y 27B); los niveles de IgG1 específicos de HDM no se vieron afectados por tratamiento alguno (datos no mostrados).

La sensibilización y el enfrentamiento a HDM también provocaron un aumento en el contenido de colágeno en los pulmones de los ratones. El contenido de colágeno en los pulmones de ratones tratados con Abs IL-4Rα y proteína IL-13Rα2-Fc se redujo a niveles observados en ratones simulados y enfrentados (Figuras 28A y 28B).

Además, el tratamiento con mAb1 evitó la entrada de eosinófilos, neutrófilos y células dendríticas inflamatorias al pulmón (Figura 29, Paneles A y B).

5 El análisis de micromatrices de ARNm aislado de tejido pulmonar de ratones IL-4^{hu/hu} IL-4Rα^{hu/hu} inducidos por HDM que fueron tratados con un anticuerpo de control del isotipo reveló la expresión diferencial de 1468 genes (826 genes regulados positivamente y 642 genes regulados negativamente) en comparación con ratones simuladamente sensibilizados y simuladamente enfrentados. El tratamiento con mAb1 de ratones IL-4^{hu/hu} IL-4Rα^{hu/hu} inducidos por HDM dio como resultado cambios de expresión en solo 521 genes (en comparación con ratones sensibilizados/enfrentados de manera simulada), bloqueando efectivamente aproximadamente el 65 % de los genes afectados por la sensibilización/el enfrentamiento a HDM (cambio > 1,5 veces, p < 0,05). De particular interés es el hallazgo de que mAb1 medió la regulación negativa de la expresión génica de varios miembros de la familia de citoquinas IL-1, específicamente proteína de unión a IL-1α (2,9 veces), a IL-33 (2,6 veces) y a IL-18 (1,5-veces). La expresión del gen IL-1β no aumentó en el grupo tratado con control del isotipo inducido por HDM (en comparación con ratones sensibilizados simuladamente), pero disminuyó (1,5 veces) en los grupos tratados con mAb1. La expresión génica de las citoquinas inflamatorias Th1 IL-12β e IFN-γ también fue regulada negativamente por mAb1 en comparación con el grupo tratado con control del isotipo. En particular, ocho genes que codifican ligandos de quimioquinas implicados en la localización y el tráfico de células estaban regulados negativamente en el grupo tratado con mAb1 en comparación con el grupo tratado con control del isotipo: Ccl11 (reducción de -9 veces), Ccl8 y Cxcl2 (ambos reducción de -5 veces), Cxcl1, Ccl7, Ccl6 (todos con reducción de -3 veces), Ccl2 y Ccl9 (reducción de aproximadamente 2 veces).

20 CONCLUSIONES

Este ejemplo muestra que el bloqueo de la señalización de IL-4 a través de receptores de Tipo I y Tipo II por anticuerpos anti-IL-4Rα suprime los cambios inflamatorios y fibróticos en los pulmones de ratones enfrentados a HDM, así como los cambios de firma genética impulsados por HDM.

25 Otras realizaciones se describen en las reivindicaciones.

LISTA DE SECUENCIAS

- <110> Sanofi Biotechnology et al.
- 5 <120> Métodos para Tratar o Prevenir el Asma mediante Administración de un Antagonista de IL-4R
<130> 857-4 EPT2
- 10 <150> US 61/691,625
US 61/758,097
US 61/761,279
US 61/783,796
US 61/805,797
- 15 FR 1356994
PCT/US2013/055747
EP 13 759 908.0
- 20 <151> 2012-08-21
2013-01-29
2013-02-06
2013-03-14
2013-03-27
- 25 2013-07-16
2013-08-20
2013-08-20
- <160> 275
- 30 <170> FastSEQ para Windows Versión 4.0
- <210> 1
<211> 351
- 35 <212> ADN
<213> Secuencia artificial
- <220>
<223> Sintético
- 40 <400> 1
cagggtcagc tgggtgagtc tgggggaggc gttgtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt cacctccgc tcctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcggtc atatcatatg atggaagtaa taaatattat 180
45 atagactccg tgaaggccg atcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgaat 240
ctgcaaatga acagcctgag acttgaggac acggctgtat attactgtgc gaaagagggg 300
aggggggggat ttgactactg gggccaggga atcccgtca ccgtctctc a 351
- 50 <210> 2
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
- <220>
<223> Sintético
- 55 <400> 2
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
60 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Arg Ser Tyr
20 25 30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ile Asp Ser Val
65 50 55 60

<400> 7
gcgaaagagg ggaggggggg attgactac 30

5 <210> 8
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Sintético

<400> 8
Ala Lys Glu Gly Arg Gly Gly Phe Asp Tyr
1 5 10

15

<210> 9
<211> 324
<212> ADN
20 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

25 <400> 9
gacatccaga tgaccagtc tccatcctca ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcactgtc gggcgagtca ggtcataaac aattattag cctggttca gcagaaacca 120
gggaaagtcc ctaagtcct gatccatgct gcattccagtt tacaaagtgg ggtccatca 180
aagttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcacttca ccatcagcag cctgcagcct 240
30 gaagatttg caacttatta ctgccaacag tataatagtc accogtggac gtcggccaa 300
gggaccaagg tggaaatcaa acga 324

<210> 10
<211> 108
<212> PRT
35 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

40 <400> 10
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 Val Ile Asn Asn Tyr
45 20 25 30
Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Ser Leu Ile
35 40 45
His Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Lys Phe Ser Gly
50 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 Ser His Pro Trp
85 90 95
55 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 11
<211> 18
60 <212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

65 <400> 11

	caggtcataa acaattat	18
	<210> 12	
	<211> 6	
5	<212> PRT	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Sintético	
10	<400> 12	
	Gln Val Ile Asn Asn Tyr	
	1 5	
15	<210> 13	
	<211> 9	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
20	<220>	
	<223> Sintético	
25	<400> 13	9
	gctgcatcc	
	<210> 14	
	<211> 3	
	<212> PRT	
30	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Sintético	
35	<400> 14	
	Ala Ala Ser	
	1	
40	<210> 15	
	<211> 27	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
45	<220>	
	<223> Sintético	
50	<400> 15	27
	caacagtata atagtcaccc gtggacg	
	<210> 16	
	<211> 9	
	<212> PRT	
	<213> Secuencia artificial	
55	<220>	
	<223> Sintético	
60	<400> 16	
	Gln Gln Tyr Asn Ser His Pro Trp Thr	
	1 5	
65	<210> 17	
	<211> 351	
	<212> ADN	

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

5 <400> 17
cagggtcagc tggggagtc tgggggaggc gtgtccagc ctgggagtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt cacctccgc tcttatggca tgcactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcggtc atatcatatg atggaagtaa taaatattat 180
10 atagactccg tgaaggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgaat 240
ctgcaaatga acagcctgag acttgaggac acggctgtat attactgtgc gaaagagggg 300
agggggggat ttgactactg gggccagga acctgtgtca ccgtctctc a 351

<210> 18
15 <211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
20 <223> Sintético

<400> 18
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
25 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Arg Ser Tyr
20 25 30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ile Asp Ser Val
30 50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Asn
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Leu Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
35 Ala Lys Glu Gly Arg Gly Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110
Val Thr Val Ser Ser
115

40 <210> 19
<211> 321
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

45 <220>
<223> Sintético

<400> 19
50 gacatccaga tgaccagtc tccatcctca ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcactgtgc gggcagtc ggtcataaac aattatttag cctggttca gcagaaacca 120
gggaaagtcc ctaagtccct gatccatgct gcatccagtt taaaagtgg ggtccatca 180
aagttcagcg gcagtgatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gaagattttg caactatta ctgccaacag tataatagtc acccgtggac gtccggccaa 300
55 gggaccaagg tggaatcaa a 321

<210> 20
<211> 107
<212> PRT
60 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

65 <400> 20
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

ES 2 971 088 T3

1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Val Ile Asn Asn Tyr
 20 25 30
 5 Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Ser Leu Ile
 35 40 45
 His Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Lys Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 10 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser His Pro Trp
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

 15 <210> 21
 <211> 351
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 20 <220>
 <223> Sintético

 <400> 21
 25 cagggtcagc tggaggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt caccttccgc tcttatggca tgcactgggt cgccaggct 120
 ccaggcaagg ggtctggagtg ggtggcagtt atatcatatg atggaagtaa taaatactat 180
 gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
 ctgcaaatga acagcctgag agctgaggac acggctgtgt attactgtgc gaaagagggg 300
 30 aggggggggat ttgactactg gggccagggg accctgggtca cggctcctc a 351

 <210> 22
 <211> 117
 <212> PRT
 35 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sintético

 <400> 22
 40 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 Thr Phe Arg Ser Tyr
 20 25 30
 45 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 50 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 Glu Gly Arg Gly Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110
 55 Val Thr Val Ser Ser
 115

 <210> 23
 60 <211> 322
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 65 <223> Sintético

ES 2 971 088 T3

<400> 23
gacatccaga tgaccagtc tccatcctca ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcactgtgc gggcgagtc ggtcataaac aattatttag cctggttca gcagaaacca 120
5 gggaaagccc ctaagtcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gaagatttg caactatta ctgccaacag tataatagtc acccgtggac gttcggccaa 300
gggaccaagg tggaatcaa ac 322

<210> 24
10 <211> 107
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
15 <223> Sintético

<400> 24
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
20 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Val Ile Asn Asn Tyr
25 20 25 30
Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile
35 40 45
25 Tyr Ala Ala Ser Ser 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
30 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser His Pro Trp
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 25
35 <211> 351
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
40 <223> Sintético

<400> 25
caggtgcagc tggaggagtc tgggggaggc gttgtccagc ctggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccttcaga agctatggca tacactgggt cgcaggct 120
45 ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatcatatg atggaagtaa taaatactat 180
gcagactccg tgaagggcgg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacactgtat 240
ctgcaaatga acagcctgat aactgaggac acggctgtgt attattgtgt gaaaggggg 300
aggggggggt ttgactactg gggccagggg accacgggtca ccgtctcctc a 351

<210> 26
50 <211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
55 <223> Sintético

<400> 26
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
60 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Arg Ser Tyr
20 25 30
Gly Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
65 Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

ES 2 971 088 T3

<400> 31
 gtgaaagagg ggaggggggg gtttgactac 30

5 <210> 32
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Sintético

<400> 32
 Val Lys Glu Gly Arg Gly Gly Phe Asp Tyr
 1 5 10

15 <210> 33
 <211> 324
 <212> ADN
 20 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

25 <400> 33
 gacatccaga tgaccagtc tccatcctca ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcactgtc gggcgagtc ggtcattaat aattatttag cctggttca gcagaaacca 120
 gggaaagtcc ctaagtcct gatccatgct gcattccagtt tgcaaagagg ggtcccatca 180
 aagttcagcg gcagtgatc tgggacagat ttcacttca ccatcaacag cctgcagcct 240
 30 gaagattttg caacttatta ctgccaacaa tataatagtt acccgtggac gttcggccaa 300
 gggaccaagg tggaaatcaa acga 324

<210> 34
 <211> 108
 35 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

40 <400> 34
 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 Val Ile Asn Asn Tyr
 20 25 30
 45 Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Ser Leu Ile
 35 40 45
 His Ala Ala Ser Ser Leu Gln Arg Gly Val Pro Ser Lys Phe Ser Gly
 50 55 60
 55 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Trp
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
 100 105

<210> 35
 <211> 18
 60 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

65 <400> 35

	caggtcatta ataattat	18
	<210> 36	
	<211> 6	
5	<212> PRT	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Sintético	
10	<400> 36	
	Gln Val Ile Asn Asn Tyr	
	1 5	
	<210> 37	
	<211> 9	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
20	<220>	
	<223> Sintético	
	<400> 37	
25	gctgcatcc	9
	<210> 38	
	<211> 3	
	<212> PRT	
30	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Sintético	
	<400> 38	
35	Ala Ala Ser	
	1	
	<210> 39	
	<211> 27	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Sintético	
	<400> 39	
50	caacaatata atagttaccg gtggacg	27
	<210> 40	
	<211> 9	
	<212> PRT	
	<213> Secuencia artificial	
55	<220>	
	<223> Sintético	
	<400> 40	
60	Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Trp Thr	
	1 5	
	<210> 41	
65	<211> 351	
	<212> ADN	

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

5 <400> 41
cagggtcagc tggggagtc tgggggaggc gttgtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccttcaga agctatggca tacactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatcatatg atggaagtaa taaatactat 180
10 gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacactgtat 240
ctgcaaatga acagcctgat aactgaggac acggctgtgt attattgtgt gaaagagggg 300
aggggggggt ttgactactg gggccaggga accttggtca ccgtctctc a 351

<210> 42
15 <211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
20 <223> Sintético

<400> 42
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
25 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Arg Ser Tyr
20 25 30
Gly Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
30 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 Ile Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
35 Val Lys Glu Gly Arg Gly Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110
Val Thr Val Ser Ser
115

40 <210> 43
<211> 321
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

45 <220>
<223> Sintético

<400> 43
50 gacatccaga tgaccagtc tccatcctca ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcactgtgc gggcgagtca ggtcattaat aattatttag cctggtttca gcagaaacca 120
gggaaagtcc ctaagtccct gatccatgct gcatccagtt tgcaaagagg ggtcccatca 180
aagttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcaacag cctgcagcct 240
gaagattttg caactatta ctgccaacaa tataatagtt acccgtggac gttcgccaa 300
55 gggaccaagg tggaatcaa a 321

<210> 44
<211> 107
<212> PRT
60 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

65 <400> 44
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

ES 2 971 088 T3

1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Val Ile Asn Asn Tyr
 20 25 30
 5 Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Ser Leu Ile
 35 40 45
 His Ala Ala Ser Ser Leu Gln Arg Gly Val Pro Ser Lys Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Gln Pro
 10 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Trp
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

 15 <210> 45
 <211> 351
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 20 <220>
 <223> Sintético

 <400> 45
 25 cagggtcagc tgggtgagtc tgggggaggc gttgtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt caccttcaga agctatggca tgcactgggt cgcaccaggct 120
 ccaggcaagg ggtctgagtg ggtggcagtt atatcatatg atggaagtaa taaatactat 180
 gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
 ctgcaaatga acagcctgag agctgaggac acggctgtgt attactgtgt gaaagagggg 300
 30 aggggggggt ttgactactg gggccagggg accctgggtca cgtctcctc a 351

 <210> 46
 <211> 117
 <212> PRT
 35 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sintético

 <400> 46
 40 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 Thr Phe Arg Ser Tyr
 20 25 30
 45 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 50 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Val Lys Glu Gly Arg Gly Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110
 55 Val Thr Val Ser Ser
 115

 <210> 47
 60 <211> 322
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 65 <223> Sintético

ES 2 971 088 T3

<400> 47
gacatccaga tgaccagtc tccatcctca ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcactgtgc gggcgagtc ggtcattaat aattatttag cctggttca gcagaaacca 120
5 gggaaagccc ctaagtcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gaagatttg caactatta ctgccaacaa tataatagtt acccgtggac gttcgccaa 300
gggaccaagg tggaatcaa ac 322

<210> 48
10 <211> 107
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
15 <223> Sintético

<400> 48
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
20 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Val Ile Asn Asn Tyr
20 25 30
Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile
35 40 45
25 Tyr Ala Ala Ser Ser 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 Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Trp
85 90 95
30 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 49
35 <211> 375
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
40 <223> Sintético

<400> 49
caggtcagc tggaggagtc tgggggagc ttggaacagc cgggggggct cttgagactc 60
45 tctgtgcag gctctggatt cacgtttaga gactatgcca tgacctgggt cggccaggct 120
ccaggaagg ggctggagtg ggtcgcacg attagtgtt cgggtgtaa cacatactc 180
gcagactccg tgaagggcgg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cagcgtgat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggcogtat attactgtgc gaaagatcga 300
ctctataa caattcgccc acgctattat ggtttggacg tctggggcca agggtccag 360
50 gtcaccgtct cctca 375

<210> 50
<211> 125
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
55 <223> Sintético

<400> 50
60 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Glu Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Arg Asp Tyr
20 25 30
Ala Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
65 Ala Ser Ile Ser Gly Ser Gly Gly Asn Thr Tyr Phe Ala Asp Ser Val

ES 2 971 088 T3

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
 5 85 90 95
 Ala Lys Asp Arg Leu Ser Ile Thr Ile Arg Pro Arg Tyr Tyr Gly Leu
 100 105 110
 Asp Val Trp Gly Gln Gly Ser Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

10

<210> 51

<211> 24

<212> ADN

15 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintético

20

<400> 51

ggattcacgt ttagagacta tgcc

24

<210> 52

<211> 8

25 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintético

30

<400> 52

Gly Phe Thr Phe Arg Asp Tyr Ala

1 5

35

<210> 53

<211> 24

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

40

<220>

<223> Sintético

45

<400> 53

attagtggtt ccggtggtaa caca

24

<210> 54

<211> 8

<212> PRT

50 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintético

55

<400> 54

Ile Ser Gly Ser Gly Gly Asn Thr

1 5

60

<210> 55

<211> 54

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

65

<220>

<223> Sintético

<400> 55
 gcgaaagatc gactctctat aacaattcgc ccacgctatt atggtttgga cgtc 54

5 <210> 56
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Sintético

<400> 56
 Ala Lys Asp Arg Leu Ser Ile Thr Ile Arg Pro Arg Tyr Tyr Gly Leu
 15 1 5 10 15
 Asp Val

20 <210> 57
 <211> 324
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223> Sintético

<400> 57
 gacatccaga tgaccagtc tccatcctca ctgtctgcat ctgttgaga cagagtcacc 60
 30 atcacttgtc gggcgagtca ggccattaac aatcatttag cctggttca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaagtccct gatcttgct gtatccagtt tgcaaagtg ggtccatca 180
 aagttcagcg gcagtgatc tgggacagac ttcactctca ccacagcag cctgcagcct 240
 gaagatttg caacttatta ctgccaacag tataatagtt acccgtggac gttcggccaa 300
 35 gggaccaagg tggaatcaa acga 324

<210> 58
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Sintético

<400> 58
 45 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 Ala Ile Asn Asn His
 20 25 30
 Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile
 50 35 40 45
 Phe Ala Val Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Lys 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
 55 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Trp
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
 100 105

60 <210> 59
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

65 <220>

<223> Sintético
 <400> 59
 5 caggccatta acaatcat 18
 <210> 60
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 10
 <220>
 <223> Sintético
 <400> 60
 15 Gln Ala Ile Asn Asn His
 1 5
 <210> 61
 20 <211> 9
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 25 <223> Sintético
 <400> 61
 gctgtatcc 9
 30 <210> 62
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 35 <220>
 <223> Sintético
 <400> 62
 40 Ala Val Ser
 1
 <210> 63
 <211> 27
 45 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sintético
 50 <400> 63
 caacagtata atagttacc gtggacg 27
 <210> 64
 55 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 60 <223> Sintético
 <400> 64
 Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Trp Thr
 65 1 5

<210> 65
 <211> 372
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 5
 <220>
 <223> Sintético

 <400> 65
 10 gaggtgcagc tggaggagtc tgggggaggc ttggaacagc cgggggggtc cttgagactc 60
 tctgtgcag gctctggatt cacgtttaga gactatgcca tgacctgggt cggccaggct 120
 ccagggaaagg ggctggagtg ggtcgcacgc attagtggtt cgggtggtaa cacatacttc 180
 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
 ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagatcga 300
 15 ctctctataa caattcgccc acgctattat ggttggagc tctggggcca agggaccacg 360
 gtcaccgtct cc 372

 <210> 66
 <211> 124
 20 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sintético
 25
 <400> 66
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Glu Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 30 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Arg Asp Tyr
 20 25 30
 Ala Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Ser Ile Ser Gly Ser Gly Gly Asn Thr Tyr Phe Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 35 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
 40 Ala Lys Asp Arg Leu Ser Ile Thr Ile Arg Pro Arg Tyr Tyr Gly Leu
 100 105 110
 Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser
 115 120

 45 <210> 67
 <211> 321
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 50 <220>
 <223> Sintético

 <400> 67
 55 gacatccaga tgaccagtc tccatcctca ctgtctgcat ctgttgaga cagagtcacc 60
 atcactgtgc gggcgagtc gccattaac aatcatttag cctggttca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaagtcct gatcttgc gtatccagt tgcgaagtgg ggtccatca 180
 aagttcagcg gcagttgat tgggacagac ttactctca ccatacagc cctgcagcct 240
 gaagatttg caacttatta ctgccaacag tataatagt acccgtggac gttcgccaa 300
 60 gggaccaagg tggaatcaa a 321

 <210> 68
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 65
 <220>

<223> Sintético

<400> 68

5 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 Ala Ile Asn Asn His
 20 25 30
 Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile
 35 40 45
 10 Phe Ala Val Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Lys 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
 15 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Trp
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

20 <210> 69

<211> 373

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

25 <220>

<223> Sintético

<400> 69

30 gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt cacgtttaga gactatgcca tgagctgggt cgcaggct 120
 ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtgggt ccggtggtaa cacatactac 180
 gcagactccg tgaagggcgg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgat 240
 ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagatcga 300
 ctctctataa caattcgccc acgctattat ggtttgagc tctggggcca agggaccacg 360
 35 gtcaccgtct cct 373

<210> 70

<211> 124

<212> PRT

40 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintético

45 <400> 70

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 Phe Thr Phe Arg Asp Tyr
 20 25 30
 50 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 55 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 Asp Arg Leu Ser Ile Thr Ile Arg Pro Arg Tyr Tyr Gly Leu
 100 105 110
 60 Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser
 115 120

65 <210> 71

<211> 322

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintético

5

<400> 71

gacatccaga tgaccagtc tccatcctca ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcactgtc gggcgagtc ggccattaac aatcatttag cctggttca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaagtcct gatctatgct gtatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
 10 aggttcagcg gcagtgatc tgggacagat ttactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
 gaagatttg caactatta ctgccaacag tataatagtt acccgtggac gttcggccaa 300
 gggaccaagg tggaatcaa ac 322

<210> 72

<211> 107

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15

<220>

<223> Sintético

20

<400> 72

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 25 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ala Ile Asn Asn His
 20 25 30
 Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile
 35 40 45
 30 Tyr Ala Val Ser Ser 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 Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Trp
 85 90 95
 35 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 73

<211> 375

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

40

<220>

<223> Sintético

45

<400> 73

caggtgcagc tgggtgagtc tgggggaggc ttggaacagc cgggggggtc cttgagactc 60
 tcctgtgcag gctctggatt cacgtttaga gactatgcca tgacctgggt ccgccaggct 120
 50 ccaggaagg ggctggagtg ggtcgcacg attagtgggt cgggtggtaa cacatactc 180
 gcagactccg tgaaggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
 ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagatcga 300
 ctctctataa caattgccc acgctattat gtttggacg tctggggcca agggctccag 360
 gtcaccgtct cctca 375

55

<210> 74

<211> 125

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

60

<220>

<223> Sintético

<400> 74

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

65

ES 2 971 088 T3

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Arg Asp Tyr
 20 25 30
 Ala Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 5 Ala Ser Ile Ser Gly Ser Gly Gly Asn Thr Tyr Phe 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
 10 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Lys Asp Arg Leu Ser Ile Thr Ile Arg Pro Arg Tyr Tyr Gly Leu
 100 105 110
 Asp Val Trp Gly Gln Gly Ser Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125
 15

<210> 75
 <211> 24
 <212> ADN
 20 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

25 <400> 75
 ggattcacgt ttagagacta tgcc 24

<210> 76
 <211> 8
 30 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

35 <400> 76
 Gly Phe Thr Phe Arg Asp Tyr Ala
 1 5

40 <210> 77
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

45 <220>
 <223> Sintético

50 <400> 77
 attagtgggt ccggtgtaa caca 24

<210> 78
 <211> 8
 <212> PRT
 55 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

60 <400> 78
 Ile Ser Gly Ser Gly Gly Asn Thr
 1 5

65 <210> 79
 <211> 54

<212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 5 <223> Sintético

<400> 79
 gcgaaagatc gactctctat aacaattcgc ccacgctatt atggtttga cgtc 54

10 <210> 80
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223> Sintético

<400> 80
 Ala Lys Asp Arg Leu Ser Ile Thr Ile Arg Pro Arg Tyr Tyr Gly Leu
 20 1 5 10 15
 Asp Val

25 <210> 81
 <211> 339
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Sintético

<400> 81
 gaaatagtgt tgacgcagtc tccactctcc ctgcccgctca ccctggaga gccggcctcc 60
 35 atctctctgca ggtctagta gagcctcctg tatagtattg gatacaacta ttggattgg 120
 tacctgcaga agtcagggca gctccacag ctcttatct attgggttc taatcgggcc 180
 tccggggtcc ctgacaggtt cagtggcagt ggatcaggca cagattttac actgaaaatc 240
 agcagagtgg aggctgagga tgttgggtt tattactgca tgcaagctct acaaactccg 300
 40 tacacttttg gcccggggac caagctggag atcaaacga 339

45 <210> 82
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

50 <220>
 <223> Sintético

<400> 82
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser
 20 25 30
 Ile Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Ser Gly Gln Ser
 55 35 40 45
 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 60 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Phe Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
 85 90 95
 Leu Gln Thr Pro Tyr Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110
 Arg

65

ES 2 971 088 T3

<210> 83
 <211> 33
 <212> ADN
 5 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sintético

 10 <400> 83
 cagagcctcc tgtatagtat tggatacaac tat 33

 <210> 84
 <211> 11
 15 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sintético
 20
 <400> 84
 Gln Ser Leu Leu Tyr Ser Ile Gly Tyr Asn Tyr
 1 5 10

 25
 <210> 85
 <211> 9
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 30
 <220>
 <223> Sintético

 <400> 85
 35 ttgggttct 9

 <210> 86
 <211> 3
 <212> PRT
 40 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sintético

 45 <400> 86
 Leu Gly Ser
 1

 50 <210> 87
 <211> 27
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 55 <220>
 <223> Sintético

 <400> 87
 60 atgcaagctc tacaactcc gtacact 27

 <210> 88
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 65
 <220>

<223> Sintético

<400> 88
 Met Gln Ala Leu Gln Thr Pro Tyr Thr
 5 1 5

<210> 89
 <211> 372
 10 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

15 <400> 89
 gaggtgcagc tggaggagtc tgggggaggc ttggaacagc cggggggggtc cttgagactc 60
 tctgtgcag gctctggatt cacgtttaga gactatgcca tgacctgggt cggccaggct 120
 ccaggggaagg ggctggagtg ggtcgcacgc attagtgtt cgggtggtaa cacatacttc 180
 20 gcagactccg tgaagggccg gttcacatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
 ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagatcga 300
 ctctctataa caattcgccc acgctattat ggttggagc tctggggcca agggaccacg 360
 gtcaccgtct cc 372

25 <210> 90
 <211> 124
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Sintético

<400> 90
 35 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Glu Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Arg Asp Tyr
 20 25 30
 Ala Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 40 Ala Ser Ile Ser Gly Ser Gly Gly Asn Thr Tyr Phe 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
 45 Ala Lys Asp Arg Leu Ser Ile Thr Ile Arg Pro Arg Tyr Tyr Gly Leu
 100 105 110
 Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser
 115 120

50 <210> 91
 <211> 336
 <212> ADN
 55 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

60 <400> 91
 gatattgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgtca ccctggaga gccggcctcc 60
 atctcctgca ggctagtc gagcctcctg tatagtattg gatacaacta ttggattgg 120
 tacctgcaga agtcagggca gctccacag ctcttatct attgggttc taatcgggcc 180
 tccggggtcc ctgacaggtt cagtggcagt ggtacaggca cagattttac actgaaaatc 240
 65 agcagagtgg aggctgagga tgttgggtt tattactgca tgcaagctct acaaactccg 300
 tacacttttg gccgggggac caagctggag atcaaa 336

<210> 92
 <211> 112
 <212> PRT
 5 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sintético

 10 <400> 92
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser
 20 25 30
 15 Ile Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Ser Gly Gln Ser
 35 40 45
 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 20 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Phe Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
 85 90 95
 Leu Gln Thr Pro Tyr Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110
 25

<210> 93
 <211> 373
 <212> ADN
 30 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sintético

 35 <400> 93
 gaggtgcagc tggaggagtc tgggggaggc ttgttacagc ctggggggtc cctgagactc 60
 tctgtgcag cctctggatt cacgtttaga gactatgcca tgagctgggt cgcaggct 120
 ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtgggt cgggtggtta cacatactac 180
 gcagactccg tgaagggcgg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgat 240
 40 ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggcgtat attactgtgc gaaagatcga 300
 ctctctataa caattcgccc acgctattat ggtttggacg tctggggcca agggaccacg 360
 gtcaccgtct cct 373

<210> 94
 <211> 124
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sintético

 50 <400> 94
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 55 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Arg Asp Tyr
 20 25 30
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 60 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
 65 Ala Lys Asp Arg Leu Ser Ile Thr Ile Arg Pro Arg Tyr Tyr Gly Leu
 100 105 110

ES 2 971 088 T3

Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser
 115 120

5 <210> 95
 <211> 337
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Sintético

<400> 95
 gatattgga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgta ccctggaga gccggcctcc 60
 atctctgca ggtctagta ggcctcctg tatagtattg gatacaacta ttggattgg 120
 tacctgcaga agccagggca gtctccacag ctctgatct attgggttc taatcgggcc 180
 tccgggtcc ctgacaggtt cagtggcagt ggatcaggca cagattttac actgaaaac 240
 agcagagtg aggctgagga tgttggggt tattactgca tgcaagctct acaactccg 300
 tacactttg gccaggggac caagctggag atcaaac 337

20 <210> 96
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223> Sintético

<400> 96
 30 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser
 20 25 30
 Ile Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 35 40 45
 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 40 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
 85 90 95
 Leu Gln Thr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110

45 <210> 97
 <211> 375
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

50 <220>
 <223> Sintético

<400> 97
 55 caggtgcagc tggaggagtc tgagggactc ttggaacagc ctggggggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt caactttaga gactttgcca tgacctgggt cggccaggct 120
 ccaggaagg ggctggagtg ggtctcatct attagtggta gtggtagtaa tacatactac 180
 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tcagagaca attccaacca cagcgtgtat 240
 ctgcgaatga acagcctgag agccgaagac acggccgtgt attactgtgc gaaagatcga 300
 60 ctctctataa caattgccc acgctattac ggtctggacg tctggggcca aggtccacg 360
 gtcaccgtct cctca 375

<210> 98
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

5 <400> 98
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Glu Gly Leu Leu Glu Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Phe Arg Asp Phe
 20 25 30
 10 Ala Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 15 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Asn His Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Arg Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Lys Asp Arg Leu Ser Ile Thr Ile Arg Pro Arg Tyr Tyr Gly Leu
 100 105 110
 20 Asp Val Trp Gly Gln Gly Ser Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 99
 25 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 30 <223> Sintético

<400> 99
 ggattcaact ttagagactt tgcc 24

35 <210> 100
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Sintético

<400> 100
 45 Gly Phe Asn Phe Arg Asp Phe Ala
 1 5

<210> 101
 50 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

55 <400> 101
 attagtggtgta gtgtagtaa taca 24

<210> 102
 60 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 65 <223> Sintético

ES 2 971 088 T3

<400> 102
Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asn Thr
1 5

5
<210> 103
<211> 54
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

10
<220>
<223> Sintético

<400> 103
15 gcgaaagatc gactctctat aacaattcgc ccacgctatt acggtctgga cgtc 54

<210> 104
<211> 18
<212> PRT
20 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 104
25 Ala Lys Asp Arg Leu Ser Ile Thr Ile Arg Pro Arg Tyr Tyr Gly Leu
1 5 10 15
Asp Val

30
<210> 105
<211> 324
<212> ADN
35 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 105
40 gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcgagtc ggacattagc aattatttg cctggtatca gcagaagcca 120
gggaaagttc ctaagctct gatcttggc gcatccactt tgcattcagg ggtccatct 180
cggttcagtg gcagtgatc tgggacagat ttactctca ccattcgag cctgcagcct 240
45 gaagatgtg caacttatta ctgtcaaaaa tatgacagtg ccccgtagac tttggccag 300
gggaccaagg tggaatcaa acga 324

<210> 106
<211> 108
<212> PRT
50 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 106
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
60 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
20 25 30
Phe Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Phe Ala Ala Ser Thr Leu His Pro Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
65 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Arg Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

ES 2 971 088 T3

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Lys Tyr Asp Ser Ala Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105

5

<210> 107
<211> 18
<212> ADN
10 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

15 <400> 107
caggacatta gcaattat 18

<210> 108
<211> 6
20 <212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

25 <400> 108
Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
1 5

30 <210> 109
<211> 9
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

35 <220>
<223> Sintético

40 <400> 109
gctgcatcc 9

<210> 110
<211> 3
<212> PRT
45 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

50 <400> 110
Ala Ala Ser
1

55 <210> 111
<211> 27
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

60 <220>
<223> Sintético

<400> 111
caaaaatattg acagtgtccc gtacact 27

65 <210> 112

ES 2 971 088 T3

<211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <223> Sintético

<400> 112
 Gln Lys Tyr Asp Ser Ala Pro Tyr Thr
 10 1 5

<210> 113
 <211> 372
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

20 <400> 113
 gaggtgcagc tggaggagtc tgagggactc ttggaacagc ctgggggggc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt caactttaga gactttgcc a tgacctgggt ccgccaggct 120
 ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcatct attagtggta gtggtagtaa tacatactac 180
 25 gcagactccg tgaagggcgg gttcaccatc tccagagaca attccaacca cacgctgtat 240
 ctgcgaatga acagcctgag agccgaagac acggccgtgt attactgtgc gaaagatcga 300
 ctctctataa caattcgccc acgctattac ggtctggacg tctggggcca agggaccacg 360
 gtcaccgtct cc 372

30 <210> 114
 <211> 124
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

35 <220>
 <223> Sintético

<400> 114
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Glu Gly Leu Leu Glu Gln Pro Gly Gly
 40 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Phe Arg Asp Phe
 20 25 30
 Ala Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 45 Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Asn His Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Arg Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 50 85 90 95
 Ala Lys Asp Arg Leu Ser Ile Thr Ile Arg Pro Arg Tyr Tyr Gly Leu
 100 105 110
 Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser
 115 120

55 <210> 115
 <211> 321
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

65 <400> 115
 gacatccaga tgaccagtc tccatctccc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggcgagtca ggacattagc aattatttg cctgggatca gcagaagcca 120
 gggaaagtc ctaagctct gatcttgct gcatccact tgcacccagg ggtccatct 180
 cgggtcagtg gcagtgatc tgggacagat ttactctca ccattgcag cctgcagcct 240
 gaagatgtg caactatta ctgtcaaaaa tatgacagtg ccccgtagc tttggccag 300
 5 gggaccaagc tggagatcaa a 321

<210> 116
 <211> 107
 <212> PRT
 10 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

15 <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 Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
 20 20 25 30
 Phe Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Phe Ala Ala Ser Thr Leu His Pro Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Arg Ser Leu Gln Pro
 25 65 70 75 80
 Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Lys Tyr Asp Ser Ala Pro Tyr
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

30

<210> 117
 <211> 373
 <212> ADN
 35 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

40 <400> 117
 gaggtgcagc tggaggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt caacttaga gacttgcca tgagctgggt ccgccaggct 120
 ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtgga tggtagtaa tacatactac 180
 gcagactccg tgaaggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa caccgtgat 240
 45 ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagatcga 300
 ctctctataa caattgccc acgctattac ggtctggacg tctggggcca agggaccacg 360
 gtaccgtct cct 373

50 <210> 118
 <211> 124
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 55 <223> Sintético

<400> 118
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 60 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Phe Arg Asp Phe
 20 25 30
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 65 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

ES 2 971 088 T3

<210> 122
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 5
 <220>
 <223> Sintético
 <400> 122
 10 Gln 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 Val Ala Ser Gly Phe Thr Leu Asn Asn Phe
 20 25 30
 Val Met Asn Trp Val Arg Gln Val Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 15 35 40 45
 Ser Phe Ile Ser Ala Ser Gly Gly Ser Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 20 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Lys Ser Pro Tyr Asn Trp Asn Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 25 115

<210> 123
 <211> 24
 30 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético
 35

<400> 123
 ggattcacc ttaacaactt tgtc 24

<210> 124
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético
 45

<400> 124
 Gly Phe Thr Leu Asn Asn Phe Val
 1 5

50
 <210> 125
 <211> 24
 <212> ADN
 55 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

60 <400> 125
 attagtgcta gtggtgtag tata 24

<210> 126
 <211> 8
 65 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

5 <400> 126
 Ile Ser Ala Ser Gly Gly Ser Ile
 1 5

10 <210> 127
 <211> 36
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223> Sintético

<400> 127
 gcgaaatccc cgtataactg gaacccttt gactat 36

20 <210> 128
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223> Sintético

<400> 128
 Ala Lys Ser Pro Tyr Asn Trp Asn Pro Phe Asp Tyr
 1 5 10

35 <210> 129
 <211> 327
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Sintético

<400> 129
 gacatccagt tgaccagtc tcagccacc ctgtctgtgt ctccagggga acgagccacc 60
 ctctcctgca gggccagctc gagtgtagc agcaaattag cctggtacca gcagacacct 120
 45 ggccaggctc ccagactcct catctatagt gctccaccc gggccactgg tatcccagtc 180
 aggttcagtg gcagtggtc tgggacagag ttactctca ccatcagcag cctgcagtct 240
 gaagattttg cggtttatta ctgacagcag tataatcatt ggctccgta cactttggc 300
 caggggacca aggtggagat caaacga 327

50 <210> 130
 <211> 109
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

55 <220>
 <223> Sintético

<400> 130
 Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly
 60 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Leu Ser Val Ser Ser Lys
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Thr Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
 35 40 45

65 Tyr Ser Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Val Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

ES 2 971 088 T3

<210> 136
 <211> 10
 <212> PRT
 5 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sintético

 10 <400> 136
 Gln Gln Tyr Asn His Trp Pro Pro Tyr Thr
 1 5 10

 15 <210> 137
 <211> 357
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 20 <220>
 <223> Sintético

 <400> 137
 gaggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60
 25 tcctgtgtag cttctggatt caccctaac aactttgtca tgaactgggt cggccagggt 120
 ccagggaaagg gactggagtg ggtctctttt attagtgcta gtggtgtag tatatactac 180
 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca ctccaagaa cacattatat 240
 ctgcaaatga acagcctgag agccgacgac acggcctgtct attactgtgc gaaatccccg 300
 tataactgga accccttga ctattggggc caggaaccc tggcaccgt ctctca 357
 30
 <210> 138
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 35
 <220>
 <223> Sintético

 <400> 138
 40 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 Val Ala Ser Gly Phe Thr Leu Asn Asn Phe
 20 25 30
 Val Met Asn Trp Val Arg Gln Val Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 45 35 40 45
 Ser Phe Ile Ser Ala Ser Gly Gly Ser Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 50 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Lys Ser Pro Tyr Asn Trp Asn Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 55 115

 <210> 139
 <211> 324
 60 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sintético
 65
 <400> 139

ES 2 971 088 T3

5 gaaatagtga tgacgcagtc tccagccacc ctgtctgtgt ctccagggga acgagccacc 60
 ctctcctgca gggccagctc gactgttagc agcaaattag cctggtacca gcagacacct 120
 ggccaggctc ccagactcct catctatagt gctccacccc gggccactgg tatcccagtc 180
 aggttcagtg gcagtggtc tgggacagag ttcacttca ccatcagcag cctgcagctc 240
 gaagatttg cggttatta ctgacagcag tataatcatt ggctccgta cactttggc 300
 caggggacca agctggagat caaa 324

10 <210> 140
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223> Sintético

20 <400> 140
 Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Leu Ser Val Ser Ser Lys
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Thr Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Ser Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Val Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 25 Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn His Trp Pro Pro
 85 90 95
 30 Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

35 <210> 141
 <211> 357
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Sintético

45 <400> 141
 gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggagggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt caccctaac aactttgtca tgagctgggt ccgccaggct 120
 ccagggaaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtgcta gtgggtgtag tataactac 180
 45 gcagactccg tgaaggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
 ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaatccccg 300
 tataactgga accccttga ctattggggc caggaaccc tggtcaccgt ctctca 357

50 <210> 142
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

55 <220>
 <223> Sintético

60 <400> 142
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 60 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Asn Asn Phe
 20 25 30
 Val Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Ala Ile Ser Ala Ser Gly Gly Ser Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 65 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

<210> 146
 <211> 125
 <212> PRT
 5 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sintético

 10 <400> 146
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Glu Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Arg Asp Tyr
 20 25 30
 15 Ala Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Gly Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 20 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 Asp Arg Leu Ser Ile Thr Ile Arg Pro Arg Tyr Tyr Gly Leu
 100 105 110
 25 Asp Val Trp Gly Gln Gly Ser Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

 <210> 147
 30 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 35 <223> Sintético

 <400> 147
 ggattcacct ttagagacta tgcc 24

 40 <210> 148
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 45 <220>
 <223> Sintético

 <400> 148
 Gly Phe Thr Phe Arg Asp Tyr Ala
 50 1 5

 <210> 149
 <211> 24
 55 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sintético
 60
 <400> 149
 attagtggtt ccggtggtaa caca 24

 <210> 150
 <211> 8
 <212> PRT

ES 2 971 088 T3

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

5 <400> 150
Ile Ser Gly Ser Gly Gly Asn Thr
1 5

10 <210> 151
<211> 54
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

15 <220>
<223> Sintético

20 <400> 151
gcgaaagatc gactctctat aacaattcgc ccacgctatt atggtttga cgtc 54

<210> 152
<211> 18
<212> PRT

25 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

30 <400> 152
Ala Lys Asp Arg Leu Ser Ile Thr Ile Arg Pro Arg Tyr Tyr Gly Leu
1 5 10 15
Asp Val

35 <210> 153
<211> 339
<212> ADN

40 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

45 <400> 153
gacatcgtgt tgaccagtc tccactctcc ctgcccgta cccctggaga gccggcctcc 60
atctcctgca ggtctagtca gagcctcctg tatagtattg gatacaacta ttggattgg 120
tacctgcaga agtcagggca gctccacag ctcttatct attgggttc taatcgggcc 180
tccgggtcc ctgacaggtt cagtggcagt ggatcaggca cagattttac actgaaaatc 240
50 agcagagtgg aggctgagga tgttgggtt tattactgca tgcaagctct acaactccg 300
tacacttttg gccaggggac caagctggag atcaaacga 339

<210> 154
<211> 113
<212> PRT

55 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

60 <400> 154
Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser
65 20 25 30
Ile Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Ser Gly Gln Ser

<220>
 <223> Sintético

5 <400> 159
 atgcaagctc tacaactcc gtacact 27

<210> 160
 <211> 9
 <212> PRT
 10 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

15 <400> 160
 Met Gln Ala Leu Gln Thr Pro Tyr Thr
 1 5

20 <210> 161
 <211> 372
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223> Sintético

<400> 161
 30 gaggtgcagc tggaggagtc tgggggaggc ttggaacagc cgggggggct cctgagactc 60
 tcctgtgcag gctctggatt cacctttaga gactatgcca tgacctgggt cggccaggct 120
 ccaggggaagg gactggagtg ggtctcatct attagtgggt cgggtggtaa cacatactac 180
 gcagactccg tgaagggcgg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgat 240
 ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagatcga 300
 ctctctataa caattcggcc acgctattat ggtttgagc tctggggcca agggaccacg 360
 35 gtcaccgtct cc 372

<210> 162
 <211> 124
 <212> PRT
 40 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

45 <400> 162
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Glu Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Arg Asp Tyr
 20 25 30
 50 Ala Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Gly Asn Thr Tyr 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 Lys Asp Arg Leu Ser Ile Thr Ile Arg Pro Arg Tyr Tyr Gly Leu
 100 105 110
 60 Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser
 115 120

<210> 163
 65 <211> 336
 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintético

5

<400> 163

gacatcgtga tgaccagtc tccactctcc ctgcccgta cccttgaga gccggcctcc 60
 atctcctgca ggtctagta gagcctcctg tatagtattg gatacaacta ttggattgg 120
 tacctgcaga agtcagggca gctccacag ctcttatct attgggttc taatcgggcc 180
 tccgggtcc ctgacaggtt cagtggcagt ggatcaggca cagattttac actgaaaatc 240
 agcagagtgg aggctgagga tgttgggtt tattactgca tgcaagctct acaactccg 300
 tacacttttg gccaggggac caagctggag atcaaa 336

10

<210> 164

<211> 112

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15

<220>

<223> Sintético

20

<400> 164

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser
 20 25 30
 Ile Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Ser Gly Gln Ser
 35 40 45
 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Phe Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
 85 90 95
 Leu Gln Thr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110

25

30

35

<210> 165

<211> 373

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

40

<220>

<223> Sintético

45

<400> 165

gaggtgcagc tggaggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt caccttaga gactatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120
 ccaggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtgggt ccggtggtaa cacatactac 180
 gcagactccg tgaaggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cagctgtat 240
 ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagatcga 300
 ctctctataa caattgcccc acgctattat gtttggagc tctggggcca agggaccacg 360
 gtcaccgtct cct 373

50

55

<210> 166

<211> 124

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

60

<220>

<223> Sintético

<400> 166

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

65

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Arg Asp Tyr
 20 25 30
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 5 Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Asn Thr Tyr 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
 10 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Lys Asp Arg Leu Ser Ile Thr Ile Arg Pro Arg Tyr Tyr Gly Leu
 100 105 110
 Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser
 115 120

15

<210> 167
 <211> 337
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

20

<220>
 <223> Sintético

25

<400> 167
 gatattgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgta ccctggaga gccggcctcc 60
 atctcctgca ggtctagca gagcctcctg tatagtattg gatacaacta ttggattgg 120
 tacctgcaga agccagggca gtctccacag ctctgatct attgggtc taatgggcc 180
 tccgggtcc ctgacaggtt cagtggcagt ggatcaggca cagattfac actgaaaatc 240
 30 agcagagtgg aggctgagga tttgggggtt tattactgca tgcaagctct acaactccg 300
 tacacttttg gccaggggac caagctggag atcaaac 337

30

<210> 168
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

35

<220>
 <223> Sintético

40

<400> 168
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser
 20 25 30
 45 Ile Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 50 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
 85 90 95
 55 Leu Gln Thr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110

55

<210> 169
 <211> 375
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

60

<220>
 <223> Sintético

65

<400> 169

ES 2 971 088 T3

cagggtcagc tggaggagtc tgggggagtc ttggagcagc ctggggggtc cctgagactc 60
 tcctgtacag cctctggatt cacctttaga gactatgcca tgacctgggt cggccaggct 120
 ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcatct attagtggta gtggtggtaa tacatactac 180
 gcagactccg tgaggggccc gttcacatc tccagagaca actccaacca caccgtgtat 240
 5 ctgcaaatga acagcctgag agccgaagac acggccgtat attactgtgc gaaagatcga 300
 ctctccataa caattgccc acgctattac ggtttggacg tctggggcca aggttccaag 360
 gtcaccgtct cctca 375

<210> 170
 10 <211> 125
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 15 <223> Sintético

<400> 170
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Val Leu Glu Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 20 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr Phe Arg Asp Tyr
 20 25 30
 Ala Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 25 Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Gly Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Arg Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Asn His 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
 30 Ala Lys Asp Arg Leu Ser Ile Thr Ile Arg Pro Arg Tyr Tyr Gly Leu
 100 105 110
 Asp Val Trp Gly Gln Gly Ser Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

35 <210> 171
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Sintético

<400> 171
 45 ggattcacct ttagagacta tgcc 24

<210> 172
 <211> 8
 <212> PRT
 50 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

55 <400> 172
 Gly Phe Thr Phe Arg Asp Tyr Ala
 1 5

60 <210> 173
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

65 <220>
 <223> Sintético

<400> 173
attagtgga gtggtgtaa taca 24

5 <210> 174
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Sintético

<400> 174
Ile Ser Gly Ser Gly Gly Asn Thr
15 1 5

<210> 175
<211> 54
20 <212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

25 <400> 175
gcgaaagatc gactctccat aacaattgc ccaagctatt acggtttgga cgtc 54

<210> 176
30 <211> 18
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
35 <223> Sintético

<400> 176
Ala Lys Asp Arg Leu Ser Ile Thr Ile Arg Pro Arg Tyr Tyr Gly Leu
40 1 5 10 15
Asp Val

<210> 177
45 <211> 324
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
50 <223> Sintético

<400> 177
gatattgga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
attactgcc gggcgagtc ggacattagc aattatttg cctggtatca gcagaagcca 120
55 gggaaagtc ctaaactcct gatcttggc gcatccactt tgcattcagg ggtccatct 180
cggttcagtg gcagtgatc tgggacagat ttcactctca ccattagtag cctgcagcct 240
gaagatgttg caacttatta ctgtcaaaag tataacagtg ccccgtagac tttggccag 300
gggaccaagg tggaatcaa acga 324

60 <210> 178
<211> 108
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

65 <220>
<223> Sintético

ES 2 971 088 T3

<400> 178
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 5 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
 20 25 30
 Phe Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 10 Phe Ala Ala Ser Thr Leu His 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 Lys Tyr Asn Ser Ala Pro Tyr
 85 90 95
 15 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
 100 105

20 <210> 179
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223> Sintético

<400> 179
 caggacatta gcaattat 18

30 <210> 180
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

35 <220>
 <223> Sintético

40 <400> 180
 Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
 1 5

45 <210> 181
 <211> 9
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

50 <220>
 <223> Sintético

<400> 181
 gctgcatcc 9

55 <210> 182
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

60 <220>
 <223> Sintético

<400> 182
 Ala Ala Ser
 1
 65

<210> 183
 <211> 27
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 5
 <220>
 <223> Sintético
 <400> 183
 10 caaaagtata acagtgcccc gtacact 27
 <210> 184
 <211> 9
 <212> PRT
 15 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sintético
 20 <400> 184
 Gln Lys Tyr Asn Ser Ala Pro Tyr Thr
 1 5
 <210> 185
 <211> 372
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 30 <220>
 <223> Sintético
 <400> 185
 35 gaggtgcagc tggaggagtc tgggggagtc ttggagcagc ctggggggtc cctgagactc 60
 tcctgtacag cctctggatt caccttaga gactatgcca tgacctgggt ccgccaggct 120
 ccaggaagg ggctggagtg ggtctcatct attagtggta gtggtggtaa tacatactac 180
 gcagactccg tgaggggccg gttcaccatc tccagagaca actccaacca cacgctgtat 240
 ctgcaaatga acagcctgag agccgaagac acggccgtat attactgtgc gaaagatcga 300
 ctctccataa caattgccc acgctattac ggtttggacg tctggggcca agggaccacg 360
 40 gtcaccgtct cc 372
 <210> 186
 <211> 124
 <212> PRT
 45 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sintético
 50 <400> 186
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Val Leu Glu Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr Phe Arg Asp Tyr
 20 25 30
 55 Ala Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Gly Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Arg Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Asn His Thr Leu Tyr
 60 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 Asp Arg Leu Ser Ile Thr Ile Arg Pro Arg Tyr Tyr Gly Leu
 100 105 110
 65 Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser
 115 120

<210> 187
 <211> 321
 5 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sintético
 10
 <400> 187
 gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 attacttgcc gggcgagtc ggacattagc aattatttg cctggtatca gcagaagcca 120
 gggaaagtc ctaaactcct gatcttggc gcatccactt tgcacccagg ggtccatct 180
 15 cgggtcagtg gcagtgatc tgggacagat ttactctca ccattagtag cctgcagcct 240
 gaagatgtg caacttatta ctgtcaaaag tataacagtg ccccgtagac ttttgccag 300
 gggaccaagc tggagatcaa a 321

 <210> 188
 20 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 25 <223> Sintético

 <400> 188
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 30 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
 20 25 30
 Phe Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Phe Ala Ala Ser Thr Leu His Pro Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 35 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 Lys Tyr Asn Ser Ala Pro Tyr
 85 90 95
 40 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

 <210> 189
 45 <211> 373
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 50 <223> Sintético

 <400> 189
 gaggtgcagc tggaggagtc tgggggaggc ttgttacagc ctggggggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt caccttaga gactatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120
 55 ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtaa tacatactac 180
 gcagactccg tgaaggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
 ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagatcga 300
 ctctccataa caattgccc acgctattac ggtttggacg tctggggcca agggaccacg 360
 gtcaccgtct cct 373
 60
 <210> 190
 <211> 124
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 65
 <220>

<223> Sintético

<400> 190

5 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 Phe Thr Phe Arg Asp Tyr
 20 25 30
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 10 Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Asn Thr Tyr 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
 15 Ala Lys Asp Arg Leu Ser Ile Thr Ile Arg Pro Arg Tyr Tyr Gly Leu
 85 90 95
 100 105 110
 Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser
 115 120
 20

<210> 191

<211> 322

<212> ADN

25 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintético

30 <400> 191

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgcc gggcgagtca ggacattagc aattatttag cctggtatca gcagaaacca 120
 gggaaagtcc ctaagctcct gatctatgct gcatccactt tgcaatcagg ggtcccatct 180
 35 cggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
 gaagatgttg caacttatta ctgtcaaaag tataacagtg ccccgctacac ttttgccag 300
 gggaccaagc tggagatcaa ac 322

<210> 192

<211> 107

40 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintético

45 <400> 192

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 Asp Ile Ser Asn Tyr
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val 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
 55 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 Lys Tyr Asn Ser Ala Pro Tyr
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105
 60

<210> 193

<211> 355

65 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

5 <400> 193
gaagtcacc tgggtgaatc tgggggaggc ttggtacagc ctggcaggtc cctgagactc 60
tcctgtgagg cctctggatt caccttgat gattatgcca tgcactgggt cggcaagct 120
ccggggaagg gcctggaatg ggtctcaggt cttagtcgga caagtgtag tataggctat 180
gcggaacttg tgaaggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctcccttat 240
10 ttggaatga acagtctgag acctgaggac acggccttat attactgtgc aaaatggggg 300
accgggggt atttgacta ctggggccag ggaaccctgg tcaccgtctc ctacg 355

<210> 194
<211> 118
15 <212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

20 <400> 194
Glu Val His Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
25 20 25 30
Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Gly Leu Ser Arg Thr Ser Val Ser Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
30 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Glu Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Lys Trp Gly Thr Arg Gly Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
35 100 105 110
Leu Val Thr Val Ser Ser
115

40 <210> 195
<211> 24
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

45 <220>
<223> Sintético

<400> 195
50 ggattcacct ttgatgatta tgcc 24

<210> 196
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

55 <220>
<223> Sintético

<400> 196
60 Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ala
1 5

<210> 197
65 <211> 24
<212> ADN

ES 2 971 088 T3

<213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sintético
 5 <400> 197
 cttagtcgga caaggtcag tata 24
 <210> 198
 10 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 15 <223> Sintético
 <400> 198
 Leu Ser Arg Thr Ser Val Ser Ile
 1 5
 20 <210> 199
 <211> 33
 <212> ADN
 25 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sintético
 30 <400> 199
 gcaaaatggg ggaccgggg gtatttgac tac 33
 <210> 200
 <211> 11
 35 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sintético
 40 <400> 200
 Ala Lys Trp Gly Thr Arg Gly Tyr Phe Asp Tyr
 1 5 10
 45 <210> 201
 <211> 322
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 50 <220>
 <223> Sintético
 <400> 201
 55 gacatccaga tgaccagtc tccatctcc gtgtctgcat ctgtgggaga cagagtcacc 60
 atcactgtc gggcgagtca gcatattagt atttggttag cctggtatca gcagagtcca 120
 gggaaagccc ctaaactcct gatcaatgtt gcatcccggt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
 aggttcagcg gcagtgatc tgggacagat tcaactctca ccatcaacag tctgcagcct 240
 gaagatttg taactacta ttgtcaacag gctaacagtt tccgatcac ctctggccaa 300
 60 gggacacgac tggcgaccaa ac 322
 <210> 202
 <211> 107
 <212> PRT
 65 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 202
 5 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ile Trp
 20 25 30
 10 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Ser Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Asn Val Ala Ser Arg 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 Asn Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 15 Glu Asp Phe Val Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Ile
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Ala Thr Lys
 100 105

20
 <210> 203
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

25
 <220>
 <223> Sintético

30
 <400> 203
 caggatatta gtatttgg 18

<210> 204
 <211> 6
 <212> PRT
 35 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

40
 <400> 204
 Gln Asp Ile Ser Ile Trp
 1 5

45
 <210> 205
 <211> 9
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

50
 <220>
 <223> Sintético

55
 <400> 205
 gttgcatcc 9

<210> 206
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

60
 <220>
 <223> Sintético

65
 <400> 206
 Val Ala Ser
 1

5 <210> 207
 <211> 27
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sintético
 10
 <400> 207
 caacaggcta acagttccc gatcacc 27

 15 <210> 208
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 20 <220>
 <223> Sintético

 <400> 208
 Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Ile Thr
 1 5
 25

 30 <210> 209
 <211> 355
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sintético
 35 <400> 209
 gaggtgcagc tggaggagtc tgggggaggc ttgtacagc ctggcaggtc cctgagactc 60
 tcctgtgagg cctctggatt caccttgat gattatgcca tgcactgggt cggcaagct 120
 ccggggaagg gcctggaatg ggtctcaggt cttagtogga caagtgtcag tataggctat 180
 gcgactctg tgaagggcog attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctcccttat 240
 40 ttgaaatga acagtctgag acctgaggac acggccttat attactgtgc aaaatggggg 300
 acccgggggt atttgacta ctggggccag ggaaccctgg tcaccgtctc ctacag 355

 45 <210> 210
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sintético
 50 <400> 210
 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 Glu Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
 20 25 30
 55 Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Gly Leu Ser Arg Thr Ser Val Ser Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 60 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Glu Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 65 Ala Lys Trp Gly Thr Arg Gly Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110
 Leu Val Thr Val Ser Ser

115

5 <210> 211
 <211> 322
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Sintético

<400> 211
 gacatccaga tgaccagtc tccatctcc gtgtctgcat ctgtgggaga cagagtcacc 60
 atcactgtc gggcgagtc gcatattagt atttggttag cctggtatca gcagagtc 120
 15 gggaaagccc ctaaactcct gatcaatgtt gcatcccgtt tgcaaagtgg ggtccatca 180
 aggttcagcg gcagtgatc tgggacagat ttcactctca ccatcaacag tctgcagcct 240
 gaagatttg taacttacta ttgcaacag gctaacagtt tcccgatcac ctctggccaa 300
 gggacacgac tggagattaa ac 322

20 <210> 212
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223> Sintético

<400> 212
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
 30 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ile Trp
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Ser Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 35 40 45
 Asn Val Ala Ser Arg 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 Asn Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Val Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Ile
 40 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
 100 105

45 <210> 213
 <211> 355
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

50 <220>
 <223> Sintético

<400> 213
 gaagtgcagc tggaggagtc tgggggagc ttgttacagc ctggcaggtc cctgagactc 60
 55 tctgtgcag cctctggatt caccttgat gattatgcca tgactgggt cgggcaagct 120
 ccaggaagg gcctggagtg ggtctcaggt cttagtcgga caagtgcag tataggctat 180
 gggactctg tgaaggccg atcaccatc tcagagaca acgccaagaa ctcctgtat 240
 ctgcaaata acagtctgag agctgaggac acggcctgt attactgtgc aaaatggggg 300
 acccgggggt atttgacta ctggggccaa ggaaccctgg tcaccgtctc ctacag 355

60 <210> 214
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

65 <220>

<223> Sintético

<400> 214

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
 10 Ser Gly Leu Ser Arg Thr Ser Val Ser Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80
 15 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Lys Trp Gly Thr Arg Gly Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110
 Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

20

<210> 215

<211> 322

<212> ADN

25 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintético

30 <400> 215

gacatccaga tgaccagtc tccatctcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcactgtgc gggcgagtc gatatattagt atttggttag cctggtatca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaagctcct gatctatggt gcatccagtt tgcaaagtgg ggtccatca 180
 35 aggttcagcg gcagtgatc tgggacagat ttactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
 gaagatttt caactacta ttgtcaacag gctaacagtt tcccgatcac cttcgccaa 300
 gggacacgac tggagattaa ac 322

40 <210> 216

<211> 107

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintético

45

<400> 216

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 50 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ile Trp
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Val Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 55 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 Ala Asn Ser Phe Pro Ile
 85 90 95
 60 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 217

<211> 363

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

65

<220>
<223> Sintético

5 <400> 217
gaggtgcagc tgttgagtc tgggggaggc ttgctacagc cgggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggaat caccttagc acctatgcca tgagctgggt cagtcaggct 120
ccagggaggg ggctggagtg ggtctcagct attagtgga tggtgatag cacatcctac 180
gcagactccg tgaaggccg gttcaccagc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
10 ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagtcata 300
gcagctcgtc ctactggaa ctctgatctc tggggccgtg gcaccctggt cactgtctcc 360
tca 363

15 <210> 218
<211> 121
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Sintético

<400> 218
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Leu Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
25 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ile Thr Phe Ser Thr Tyr
20 25 30
Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Asp Ser Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val
30 50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ser 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
35 Ala Lys Val Ile Ala Ala Arg Pro His Trp Asn Phe Asp Leu Trp Gly
100 105 110
Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

40 <210> 219
<211> 24
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

45 <220>
<223> Sintético

50 <400> 219
ggaatcacct ttagcaccta tgcc 24

<210> 220
<211> 8
<212> PRT
55 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

60 <400> 220
Gly Ile Thr Phe Ser Thr Tyr Ala
1 5

65 <210> 221
<211> 24

ES 2 971 088 T3

<212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 5 <223> Sintético

 <400> 221
 attagtgga ggggatag caca 24

 10 <210> 222
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 15 <220>
 <223> Sintético

 <400> 222
 Ile Ser Gly Ser Gly Asp Ser Thr
 20 1 5

 <210> 223
 <211> 42
 25 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sintético
 30
 <400> 223
 gcgaaagca tagcagctog tcctcactgg aacttogatc tc 42

 <210> 224
 <211> 14
 35 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 40 <223> Sintético

 <400> 224
 Ala Lys Val Ile Ala Ala Arg Pro His Trp Asn Phe Asp Leu
 45 1 5 10

 <210> 225
 <211> 324
 <212> ADN
 50 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sintético

 55 <400> 225
 gaaattgtg tgacacagtc tccagccacc ctgtcttgt ctccagggga aagagccacc 60
 ctctcctgca gggccagtc gagtgtagt agatatttag cctggatca acagaaacct 120
 ggccaggctc ccaggctcct catctatgat gcatccaaca gggccactgg catcccagcc 180
 aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagac ttcactctca ccatcagcag cctagagcct 240
 60 gaagatttg gagttatta ctgacagcag cgtagtgact ggccgctcac ttcggcgga 300
 gggaccaagg tggagatcaa acgg 324

 <210> 226
 <211> 107
 65 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

5 <400> 226
 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 Ser Arg Tyr
 20 25 30
 10 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
 15 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Gly Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asp Trp Pro Leu
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

20

<210> 227
 <211> 18
 <212> ADN
 25 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

30 <400> 227
 cagagtgtta gtagatat 18

<210> 228
 <211> 6
 35 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

40 <400> 228
 Gln Ser Val Ser Arg Tyr
 1 5

45 <210> 229
 <211> 9
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

50 <220>
 <223> Sintético

55 <400> 229
 gatgcatcc 9

<210> 230
 <211> 3
 <212> PRT
 60 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

65 <400> 230
 Asp Ala Ser

1

5 <210> 231
 <211> 27
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Sintético

<400> 231
 cagcagcgta gtgactggcc gctcact 27

15 <210> 232
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Sintético

<400> 232
 Gln Gln Arg Ser Asp Trp Pro Leu Thr
 25 1 5

30 <210> 233
 <211> 363
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

35 <220>
 <223> Sintético

<400> 233
 gaggtgcagc tgttgagtc tgggggagc ttgctacagc cgggggggct cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggaat caccttagc acctatgcca tgagctgggt ccgtcaggct 120
 ccaggagggg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtgatag cacatcctac 180
 40 gcagactccg tgaaggccg gttcaccagc tccagagaca attccaagaa cagctgtat 240
 ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagtcata 300
 gcagctcgtc ctactggaa ctctgatctc tggggccgtg gcaccctggt cactgtctcc 360
 tca 363

45 <210> 234
 <211> 121
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

50 <220>
 <223> Sintético

<400> 234
 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Leu Gln Pro Gly Gly
 55 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ile Thr Phe Ser Thr Tyr
 20 25 30
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 60 Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Asp Ser Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ser 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
 65 85 90 95
 Ala Lys Val Ile Ala Ala Arg Pro His Trp Asn Phe Asp Leu Trp Gly

ES 2 971 088 T3

100 105 110
 Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

5

<210> 235
 <211> 324
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10

<220>
 <223> Sintético

<400> 235

15 gaaattgtgt tgacacagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccaggggga aagagccacc 60
 ctctcctgca gggccagtc gagtgtagt agatatttag cctggtatca acagaaacct 120
 ggccaggctc ccaggctcct catctatgat gcatccaaca ggccactgg catccagcc 180
 aggttcagtg gcagtggtc tggacagac ttactctca ccatcagcag cctagagcct 240
 gaagatttg gaggttatta ctgacagcag cgtagtgtact ggccgctcac ttcggcgga 300
 20 gggaccaagg tggagatcaa acgg 324

25

<210> 236
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 236

30 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 Ser Arg Tyr
 20 25 30
 35 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
 40 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Gly Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asp Trp Pro Leu
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

45

<210> 237
 <211> 363
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 237

55 gaggtgcagc tgttgagtc tgggggaggc ttggtacagc cgggggggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggaat caccttagc acctatgcca tgagctgggt cgtcaggct 120
 ccagggaaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtgga tggtgatag cacatactac 180
 gcagactccg tgaaggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
 60 ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagtcata 300
 gcagctcgtc ctactggaa ctctgatctc tggggccgtg gcaccctggt cactgtctcc 360
 tca 363

65

<210> 238
 <211> 121
 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

5

<400> 238
 Glu Val Gln Leu Leu 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 Ile Thr Phe Ser Thr Tyr
 10 20 25 30
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Asp Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 15 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 Lys Val Ile Ala Ala Arg Pro His Trp Asn Phe Asp Leu Trp Gly
 20 100 105 110
 Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

25 <210> 239
 <211> 324
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Sintético

<400> 239
 gaaattgtgt tgacacagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
 35 ctctcctgca gggccagtc gagtgtagt agatatttag cctggtatca acagaaacct 120
 ggcaggctc ccaggctct catctatgat gcatccaaca gggccactgg catccagcc 180
 aggttcagtg gcagtggtc tgggacagac ttcactctca ccatcagcag cctagagcct 240
 gaagatttg cagttatta ctgctagcag cgtagtgact ggccgctcac ttccggcgga 300
 40 gggaccaagg tggagatcaa acgg 324

40 <210> 240
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

45 <220>
 <223> Sintético

<400> 240
 50 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 Ser Arg Tyr
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
 35 40 45
 55 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
 60 Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asp Trp Pro Leu
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
 100 105

65 <210> 241

ES 2 971 088 T3

<211> 366
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <223> Sintético

<400> 241
 caggtgcagc tggaggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
 10 acctgtgcag cctctggatt cacctcagt agtaatggca tgcactgggt cgcaggct 120
 ccaggcaagg ggctggagt ggtggcaatt atatcatatg atggaaataa tcaatactat 180
 gcagactccg tgaaggccg atccaccatc tccagagaca attccaagca cacgctgtat 240
 ctggaaatga acagcctgag agctgaggac acggctgtgt attactgtac aaaagccatc 300
 15 tctataagtg gaacttaaa ctggttcgat tctgggggcc agggaaccct ggtcaccgtc 360
 tctca 366

<210> 242
 <211> 122
 <212> PRT
 20 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

25 <400> 242
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Thr Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Asn
 20 25 30
 30 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Ile Ile Ser Tyr Asp Gly Asn Asn Gln Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys His Thr Leu Tyr
 35 65 70 75 80
 Leu Glu Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Thr Lys Ala Ile Ser Ile Ser Gly Thr Tyr Asn Trp Phe Asp Ser Trp
 100 105 110
 40 Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 243
 45 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 50 <223> Sintético

<400> 243
 ggattcacct tcagtagtaa tggc 24

55 <210> 244
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

60 <220>
 <223> Sintético

<400> 244
 Gly Phe Thr Phe Ser Ser Asn Gly
 65 1 5

ES 2 971 088 T3

<210> 245
 <211> 24
 <212> ADN
 5 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sintético

 10 <400> 245
 atatcatatg atggaaataa tcaa 24

 <210> 246
 <211> 8
 15 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sintético
 20
 <400> 246
 Ile Ser Tyr Asp Gly Asn Asn Gln
 1 5

 25
 <210> 247
 <211> 45
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 30
 <220>
 <223> Sintético

 <400> 247
 35 acaaaagcca tctctataag tggaacttac aactgggtcg attcc 45

 <210> 248
 <211> 15
 <212> PRT
 40 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sintético

 <400> 248
 Thr Lys Ala Ile Ser Ile Ser Gly Thr Tyr Asn Trp Phe Asp Ser
 1 5 10 15

 50 <210> 249
 <211> 324
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 55 <220>
 <223> Sintético

 <400> 249
 60 gaaattgtat tgacacagtc tccagccatc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
 ctctcctgca gggccagtc gagtgtagc aggtacttag cctggtacca acagaaacct 120
 gggcaggctc ccaggctcct catctatgat gcatccaaca gggccactgg catcccagcc 180
 aggttcagtg gcagtggtc tgggacagac ttcactctca ccatcagcag cctagagcct 240
 gaagattttg cagtttatta ctgtcaacag cgtagcaact ggccgctcac ttccggcgga 300
 gggaccaagg tggagatcaa acgg 324
 65
 <210> 250

<211> 107
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <223> Sintético

<400> 250
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Arg 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 Leu
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

25 <210> 251
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Sintético

<400> 251
 cagagtgtta gcaggtac 18

35 <210> 252
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Sintético

<400> 252
 Gln Ser Val Ser Arg Tyr
 1 5

50 <210> 253
 <211> 9
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

55 <220>
 <223> Sintético

<400> 253
 gatgcatcc 9

60 <210> 254
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

65 <220>
 <223> Sintético

<400> 254
 Asp Ala Ser
 1
 5

<210> 255
 <211> 27
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 10

<220>
 <223> Sintético

<400> 255
 caacagcgta gcaactggcc gctcact 27
 15

<210> 256
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 20

<220>
 <223> Sintético

<400> 256
 Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Leu Thr
 1 5
 25

<210> 257
 <211> 366
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 30

<220>
 <223> Sintético

<400> 257
 cagggtcagc tggaggagtc tgggggaggc gtgggccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
 acctgtgcag cctctggatt cacctcagc agtaatggca tgcactgggt cgcaggct 120
 ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcaatt atatcatatg atggaataa tcaatactat 180
 gcagactccg tgaagggccg atcaccatc tccagagaca attccaagca cagctgtat 240
 ctggaaatga acagcctgag agctgaggac acggctgtgt attactgtac aaaagccatc 300
 tctataagtg gaacttaaca ctggttcgat tcttggggcc agggaaccct ggtcaccgtc 360
 tctca 366
 35

<210> 258
 <211> 122
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 40

<220>
 <223> Sintético

<400> 258
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Thr Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Asn
 20 25 30
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Ile Ile Ser Tyr Asp Gly Asn Asn Gln Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys His Thr Leu Tyr
 65 70 75 80

<210> 262
 <211> 122
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> Sintético

<400> 262

10 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 Thr Phe Ser Ser Asn
 20 25 30
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 15 35 40 45
 Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Asn Asn Gln Tyr 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
 20 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Thr Lys Ala Ile Ser Ile Ser Gly Thr Tyr Asn Trp Phe Asp Ser Trp
 100 105 110
 Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 25 115 120

<210> 263
 <211> 324
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30

<220>
 <223> Sintético

35

<400> 263
 gaaattgtat tgacacagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
 ctctcctgca gggccagtc gagtgtagc aggtacttag cctggtacca acagaaacct 120
 ggccaggctc ccaggctcct catctatgat gcatccaaca ggccactgg catccagcc 180
 40 aggttcagtg gcagtggtc tgggacagac ttcactctca ccatcagcag cctagagcct 240
 gaagatttg cagttatta ctgtcaacag cgtagcaact ggccgctcac ttcggcgga 300
 gggaccaagg tggagatcaa acgg 324

<210> 264
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

45

<220>
 <223> Sintético

50

<400> 264
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 55 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Arg 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
 60 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 Leu
 85 90 95
 65 Thr Phe Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
 100 105

5 <210> 265
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Sintético

15 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> (1)...(8)
 <223> Xaa = cualquier aminoácido

<400> 265
 Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 1 5

20 <210> 266
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223> Sintético

30 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> (1)...(8)
 <223> Xaa = cualquier aminoácido

35 <400> 266
 Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 1 5

40 <210> 267
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

45 <220>
 <223> Sintético

50 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> (1)...(18)
 <223> Xaa = cualquier aminoácido

<400> 267
 Xaa
 1 5 10 15

55 Xaa Xaa

60 <210> 268
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

65 <220>
 <223> Sintético

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> (1)...(11)
 <223> Xaa = cualquier aminoácido
 5
 <400> 268
 Xaa
 1 5 10
 10
 <210> 269
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 15
 <220>
 <223> Sintético
 20
 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> (1)...(3)
 <223> Xaa = cualquier aminoácido
 25
 <400> 269
 Xaa Xaa Xaa
 1
 30
 <210> 270
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 35
 <220>
 <223> Sintético
 40
 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> (1)...(9)
 <223> Xaa = cualquier aminoácido
 <400> 270
 Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 1 5
 45
 <210> 271
 <211> 330
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 50
 <220>
 <223> Sintético
 55
 <400> 271
 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
 60 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 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
 5 115 120 125
 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
 10 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
 15 195 200 205
 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
 20 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
 25 275 280 285
 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
 30 Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 325 330

35 <210> 272
 <211> 327
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Sintético

<400> 272
 Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
 1 5 10 15
 45 Ser Thr Ser Glu Ser 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
 50 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 Lys Thr
 65 70 75 80
 Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95
 55 Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro
 100 105 110
 Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
 115 120 125
 Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
 60 130 135 140
 Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
 145 150 155 160
 Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
 165 170 175
 65 Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
 180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
 195 200 205
 Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
 210 215 220
 5 Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys
 225 230 235 240
 Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
 245 250 255
 10 Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
 260 265 270
 Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
 275 280 285
 Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
 290 295 300
 15 Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
 305 310 315 320
 Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
 325
 20
 <210> 273
 <211> 327
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 25
 <220>
 <223> Sintético
 <400> 273
 30 Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
 1 5 10 15
 Ser Thr Ser Glu Ser 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 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 Lys Thr
 65 70 75 80
 40 Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95
 Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Ala Pro
 100 105 110
 Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
 45 115 120 125
 Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
 130 135 140
 Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
 145 150 155 160
 50 Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
 165 170 175
 Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
 180 185 190
 Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
 195 200 205
 55 Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
 210 215 220
 Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys
 225 230 235 240
 60 Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
 245 250 255
 Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
 260 265 270
 Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
 275 280 285
 65 Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser

ES 2 971 088 T3

290 295 300
 Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
 305 310 315 320
 Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
 5 325

 <210> 274
 <211> 207
 10 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

 <400> 274
 Met Lys Val Leu Gln Glu Pro Thr Cys Val Ser Asp Tyr Met Ser Ile
 15 5 10 15
 Ser Thr Cys Glu Trp Lys Met Asn Gly Pro Thr Asn Cys Ser Thr Glu
 20 25 30
 Leu Arg Leu Leu Tyr Gln Leu Val Phe Leu Leu Ser Glu Ala His Thr
 35 40 45
 20 Cys Ile Pro Glu Asn Asn Gly Gly Ala Gly Cys Val Cys His Leu Leu
 50 55 60
 Met Asp Asp Val Val Ser Ala Asp Asn Tyr Thr Leu Asp Leu Trp Ala
 65 70 75 80
 Gly Gln Gln Leu Leu Trp Lys Gly Ser Phe Lys Pro Ser Glu His Val
 25 85 90 95
 Lys Pro Arg Ala Pro Gly Asn Leu Thr Val His Thr Asn Val Ser Asp
 100 105 110
 Thr Leu Leu Leu Thr Trp Ser Asn Pro Tyr Pro Pro Asp Asn Tyr Leu
 30 115 120 125
 Tyr Asn His Leu Thr Tyr Ala Val Asn Ile Trp Ser Glu Asn Asp Pro
 130 135 140
 Ala Asp Phe Arg Ile Tyr Asn Val Thr Tyr Leu Glu Pro Ser Leu Arg
 145 150 155 160
 Ile Ala Ala Ser Thr Leu Lys Ser Gly Ile Ser Tyr Arg Ala Arg Val
 35 165 170 175
 Arg Ala Trp Ala Gln Cys Tyr Asn Thr Thr Trp Ser Glu Trp Ser Pro
 180 185 190
 Ser Thr Lys Trp His Asn Ser Tyr Arg Glu Pro Phe Glu Gln His
 40 195 200 205

 <210> 275
 <211> 231
 <212> PRT
 45 <213> Macaca fascicularis

 <400> 275
 Met Gly Trp Leu Cys Ser Gly Leu Leu Phe Pro Val Ser Cys Leu Val
 1 5 10 15
 50 Leu Leu Gln Val Ala Ser Ser Gly Ser Met Lys Val Leu Gln Glu Pro
 20 25 30
 Thr Cys Val Ser Asp Tyr Met Ser Ile Ser Thr Cys Glu Trp Lys Met
 35 40 45
 Gly Gly Pro Thr Asn Cys Ser Ala Glu Leu Arg Leu Leu Tyr Gln Leu
 55 50 55 60
 Val Phe Gln Ser Ser Glu Thr His Thr Cys Val Pro Glu Asn Asn Gly
 65 70 75 80

ES 2 971 088 T3

Gly Val Gly Cys Val Cys His Leu Leu Met Asp Asp Val Val Ser Met
85 90 95
Asp Asn Tyr Thr Leu Asp Leu Trp Ala Gly Gln Gln Leu Leu Trp Lys
100 105 110
5 Gly Ser Phe Lys Pro Ser Glu His Val Lys Pro Arg Ala Pro Gly Asn
115 120 125
Leu Thr Val His Thr Asn Val Ser Asp Thr Val Leu Leu Thr Trp Ser
130 135 140
Asn Pro Tyr Pro Pro Asp Asn Tyr Leu Tyr Asn Asp Leu Thr Tyr Ala
10 145 150 155 160
Val Asn Ile Trp Ser Glu Asn Asp Pro Ala Tyr Ser Arg Ile His Asn
165 170 175
Val Thr Tyr Leu Lys Pro Thr Leu Arg Ile Pro Ala Ser Thr Leu Lys
180 185 190
15 Ser Gly Ile Ser Tyr Arg Ala Arg Val Arg Ala Trp Ala Gln His Tyr
195 200 205
Asn Thr Thr Trp Ser Glu Trp Ser Pro Ser Thr Lys Trp Tyr Asn Ser
210 215 220
Tyr Arg Glu Pro Phe Glu Gln
20 225 230

REIVINDICACIONES

1. Una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo que se une específicamente al receptor de interleuquina-4 (IL-4R) para uso en el tratamiento de un sujeto que padece asma grave, para reducir la incidencia de exacerbaciones de asma en un sujeto que padece asma grave o para mejorar uno o más parámetros asociados con el asma en un sujeto que padece asma grave, en donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una región variable de la cadena pesada (HCVR) que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 162 y una región variable de la cadena ligera (LCVR, por sus siglas en inglés) que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 164, en donde el sujeto tiene un nivel de eosinófilos en sangre de al menos 300 células por microlitro y/o un nivel de eosinófilos en el esputo de al menos 3 %.
2. Una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo que se une específicamente al receptor de interleuquina-4 (IL-4R) para uso en el tratamiento de un sujeto que padece asma grave, para reducir la incidencia de exacerbaciones de asma en un sujeto que padece asma grave o para mejorar uno o más parámetros asociados con el asma en un sujeto que padece asma grave, en donde el sujeto tiene un nivel elevado de óxido nítrico exhalado fraccional (FeNO), y en donde el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo comprende una región variable de la cadena pesada (HCVR) que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 162 y una región variable de la cadena ligera (LCVR, por sus siglas en inglés) que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 164, en donde el nivel de FeNO del sujeto es aproximadamente 30 ppb o más.
3. La composición farmacéutica para uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, en donde la exacerbación de asma se selecciona del grupo que consiste en:
 (a) una reducción del 30 % o más desde el valor inicial en el flujo espiratorio pico (PEF) matutino en dos días consecutivos;
 (b) seis o más inhalaciones adicionales de albuterol o levalbuterol en un período de 24 horas (en comparación con el valor inicial) en dos días consecutivos; y
 (c) un deterioro del asma que requiera:
 (i) tratamiento con esteroides sistémicos (orales y/o parenteral), o
 (ii) un aumento de los corticosteroides inhalados hasta al menos 4 veces la última dosis recibida antes de la interrupción o
 (iii) hospitalización.
4. La composición farmacéutica para uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde la mejora en un parámetro asociado al asma se selecciona del grupo que consiste en:
 (a) un aumento desde el valor inicial del volumen espiratorio forzado en 1 segundo (FEV1);
 (b) un aumento desde el valor inicial de la tasa de caudal espiratorio pico matutino (PEF AM);
 (c) un aumento desde el valor inicial de la tasa de caudal espiratorio pico vespertino (PEF PM);
 (d) una disminución desde el inicio del uso diario de albuterol o levalbuterol;
 (e) una disminución con respecto al valor inicial de la puntuación del Cuestionario de control del asma (ACQ5) de cinco puntos;
 (f) una disminución con respecto al valor inicial de despertares nocturnos (nº de veces por noche); y
 (g) una disminución con respecto al valor inicial de la puntuación de la prueba de resultados sinonasales (SNOT-22) de 22 puntos.
5. La composición farmacéutica para uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en donde la composición farmacéutica comprende 75 mg a 600 mg del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo.
6. La composición farmacéutica para uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en donde la composición farmacéutica se administra al sujeto por vía sistémica, subcutánea, intravenosa o intranasal.
7. La composición farmacéutica para uso de la reivindicación 6, en donde la composición farmacéutica se administra por vía subcutánea utilizando una aguja y jeringa, un dispositivo de administración de forma de pluma o un autoinyector.
8. La composición farmacéutica para uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en donde la composición farmacéutica se administra en combinación con uno o más agentes terapéuticos adicionales.
9. La composición farmacéutica para uso de la reivindicación 8, en donde uno o más agentes terapéuticos adicionales se seleccionan del grupo que consiste en un inhibidor de TNF, un inhibidor de IL-1, un inhibidor de IL-5, un inhibidor de IL-8, un inhibidor de IgE, un inhibidor de leucotrienos, un corticosteroide sistémico o inhalado, una metilxantina, un NSAID, nedocromil sódico, cromolín sódico, un agonista beta2 de acción prolongada y un agente antifúngico o cualquier combinación de los mismos.
10. La composición farmacéutica para uso de la reivindicación 9, en donde uno o más agentes terapéuticos adicionales es un corticosteroide inhalado (ICS) y un agonista beta2 de acción prolongada (LABA).

11. La composición farmacéutica para uso de la reivindicación 1, en donde la composición farmacéutica se administra en combinación con un corticosteroide inhalado (ICS).

Exacerbaciones de asma

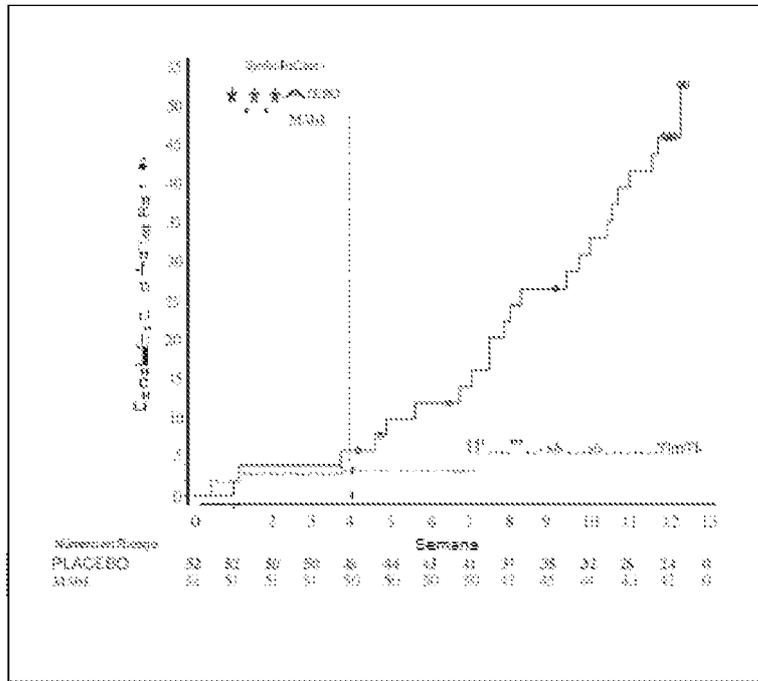


Figura 1

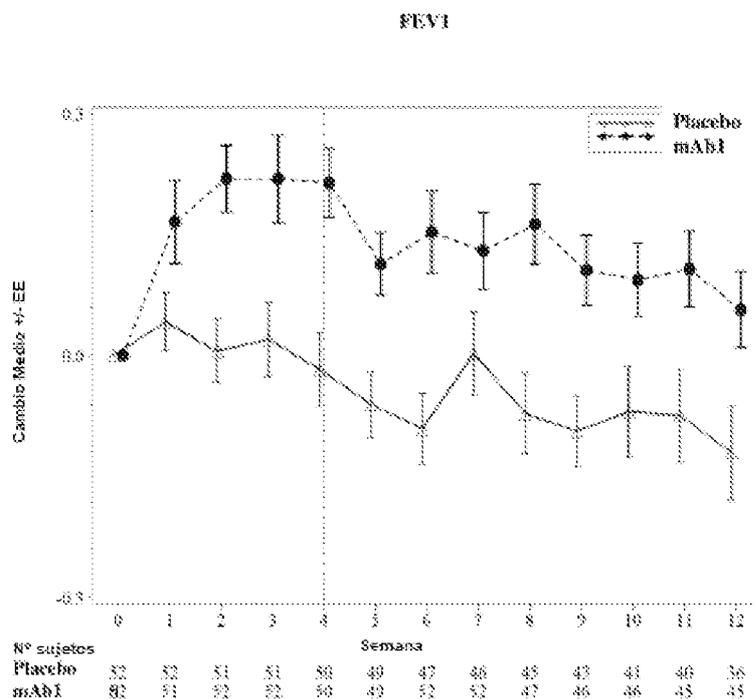


Figura 2

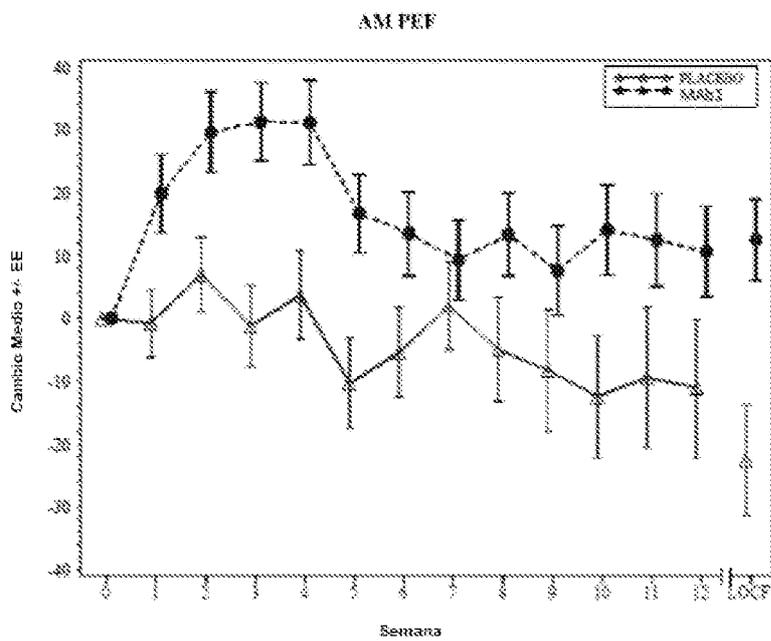


Figura 3

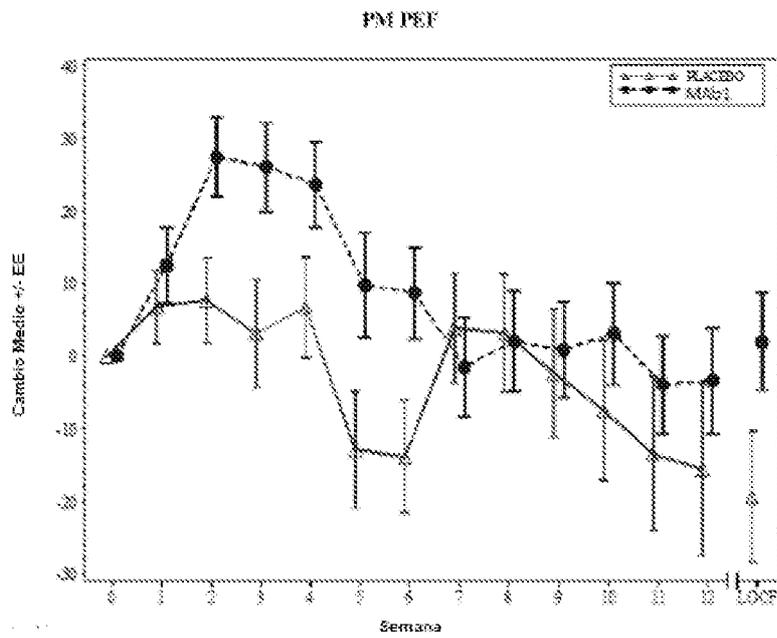


Figura 4

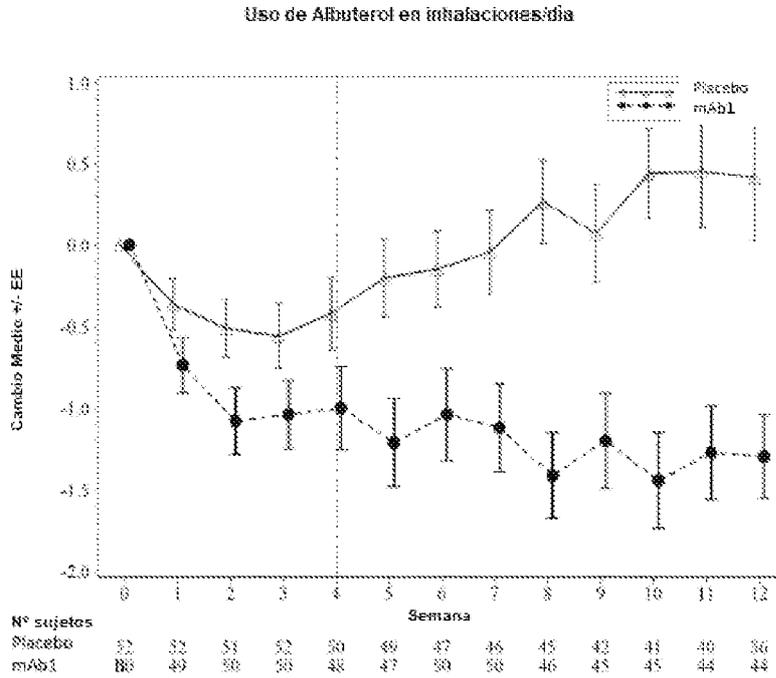


Figura 5

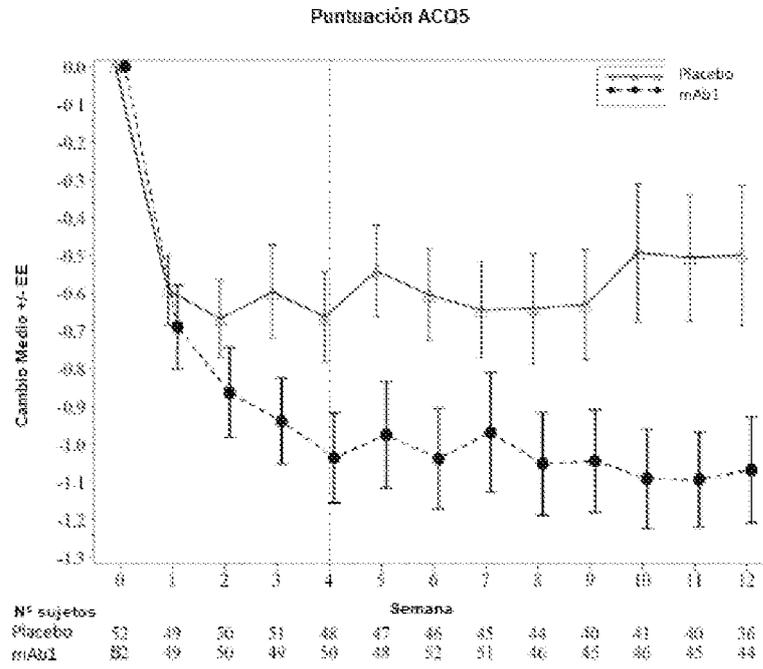


Figura 6

Despertares nocturnos

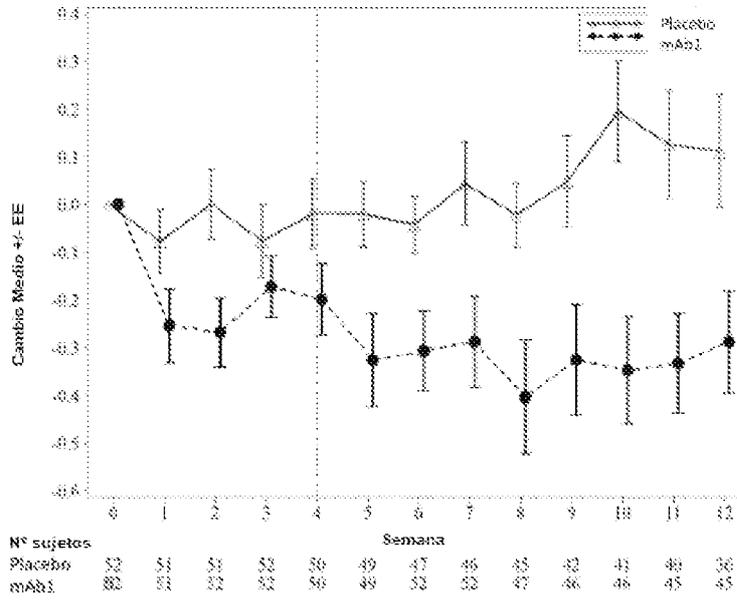


Figura 7

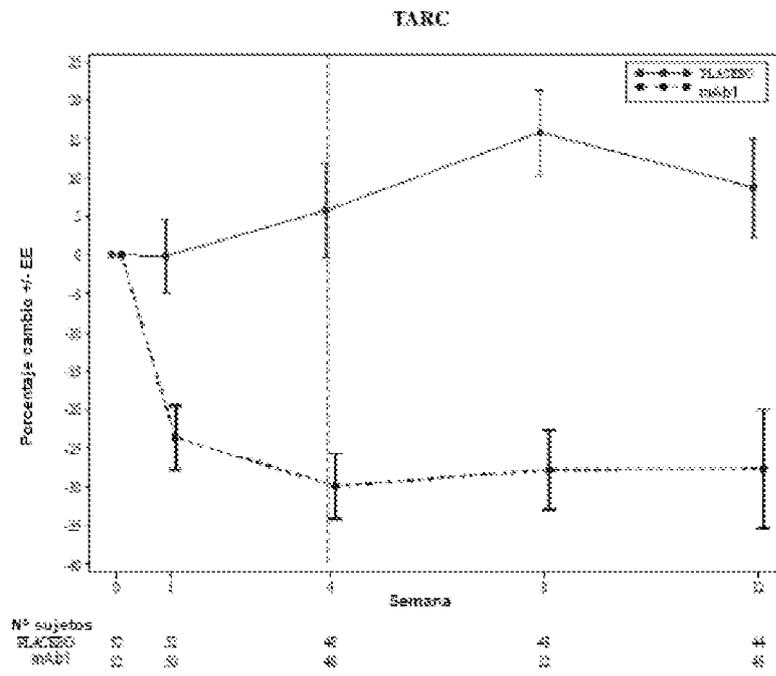


Figura 8

Entaxina-3

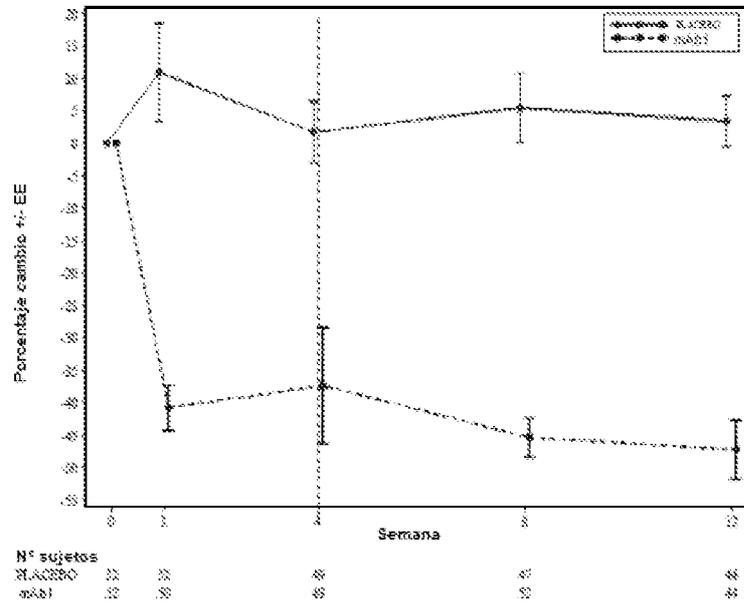


Figura 9

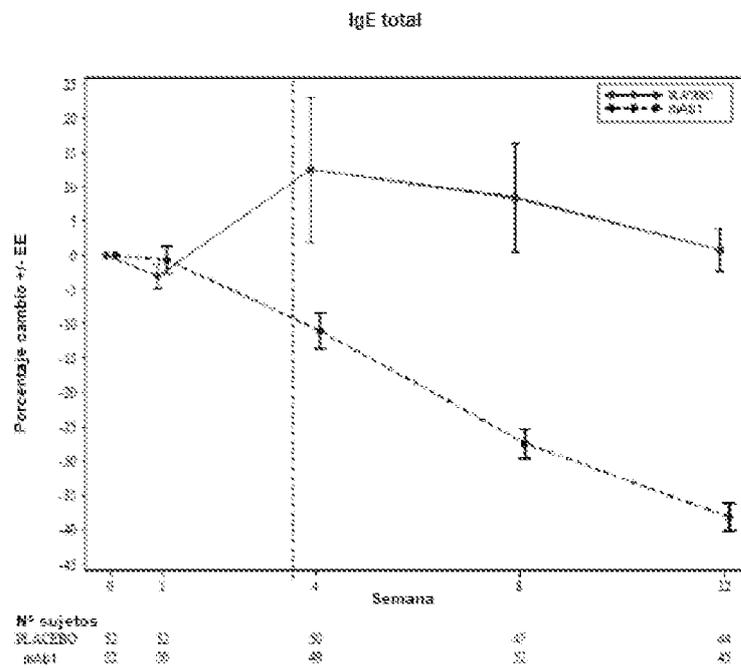


Figura 10

Perinata

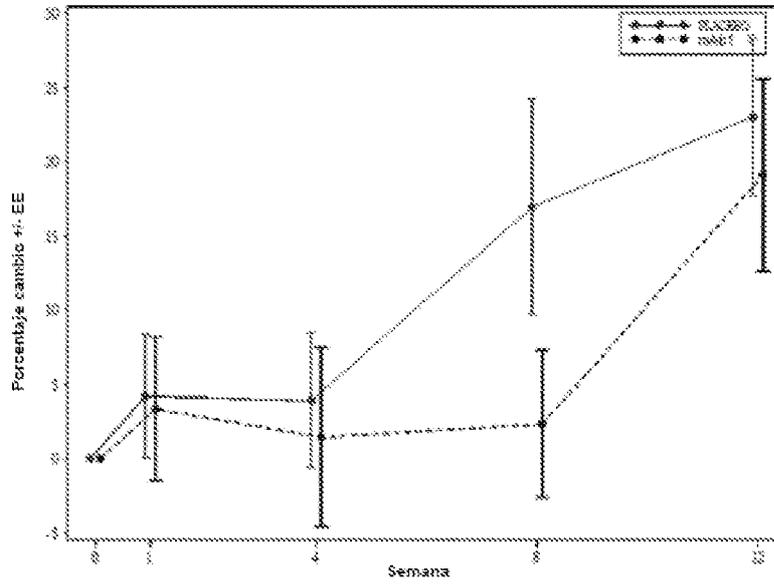


Figura 11

CEA

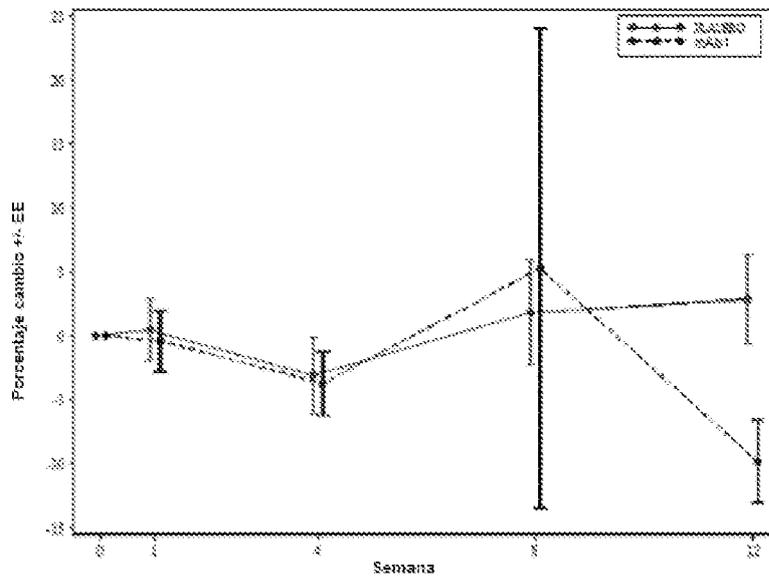


Figura 12

YKL-40

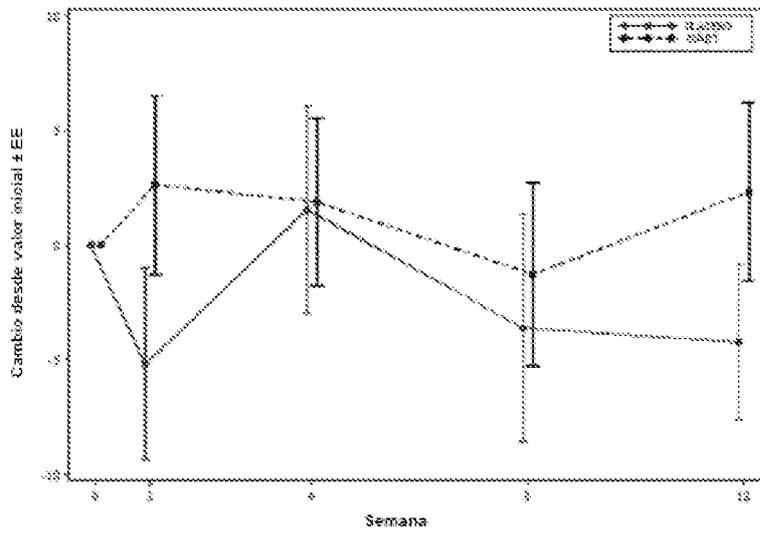


Figura 13

Eosinófilos en sangre

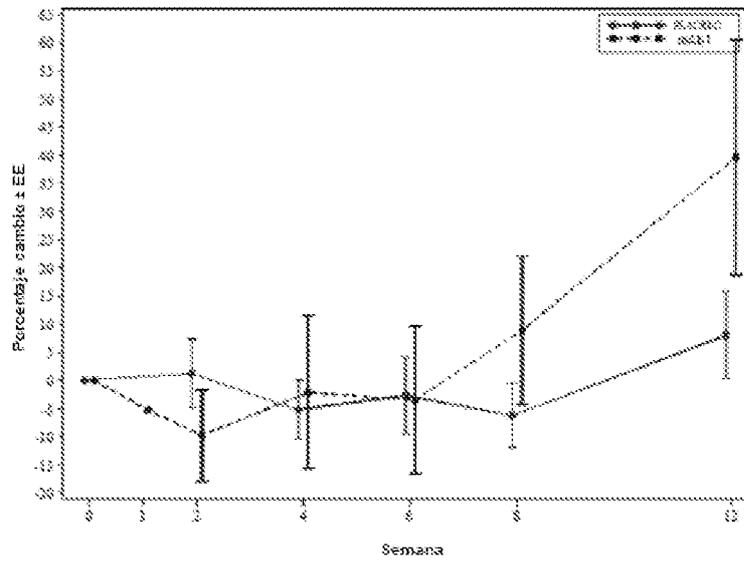


Figura 14

FeNO

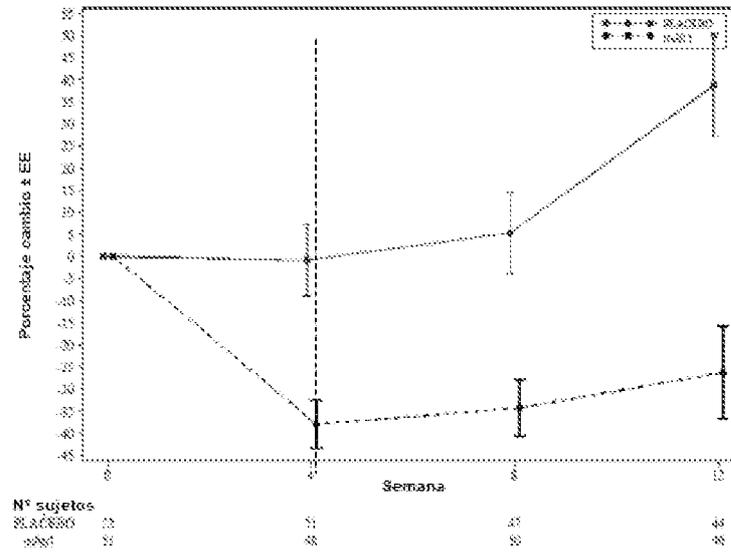


Figura 15

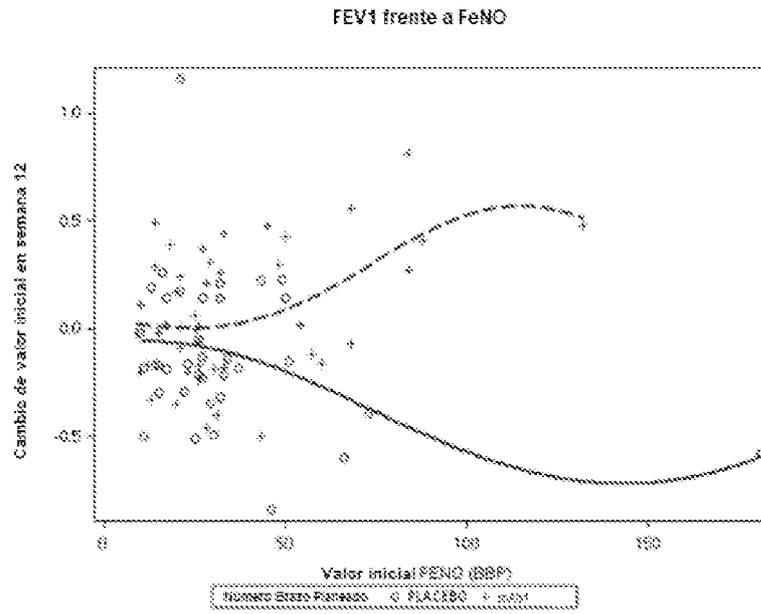


Figura 16

PEF AM frente a FeMO

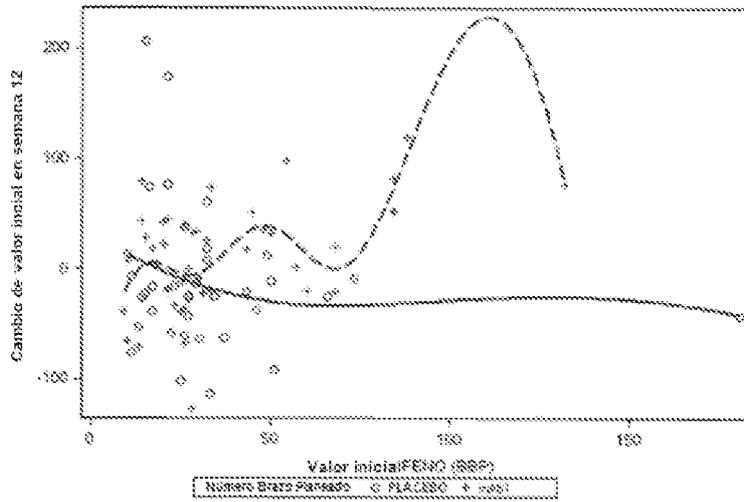


Figura 17

PEF PM frente a FeNO

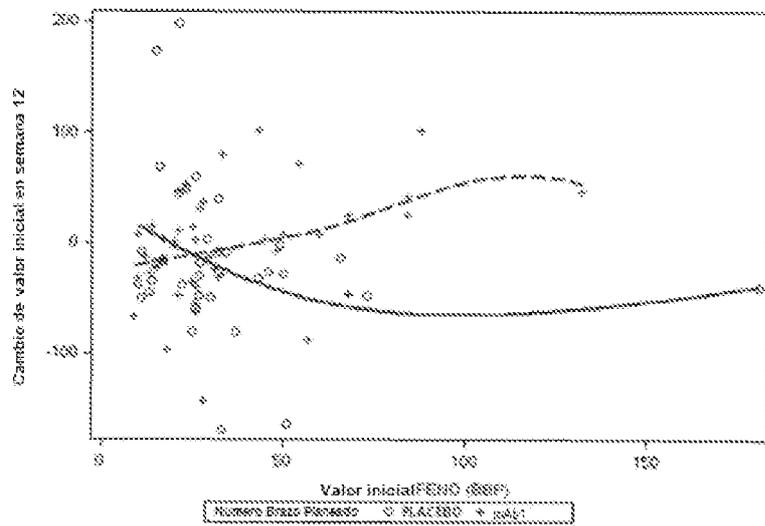


Figura 18

FEV1 frente a Eosinófilos en Sangre

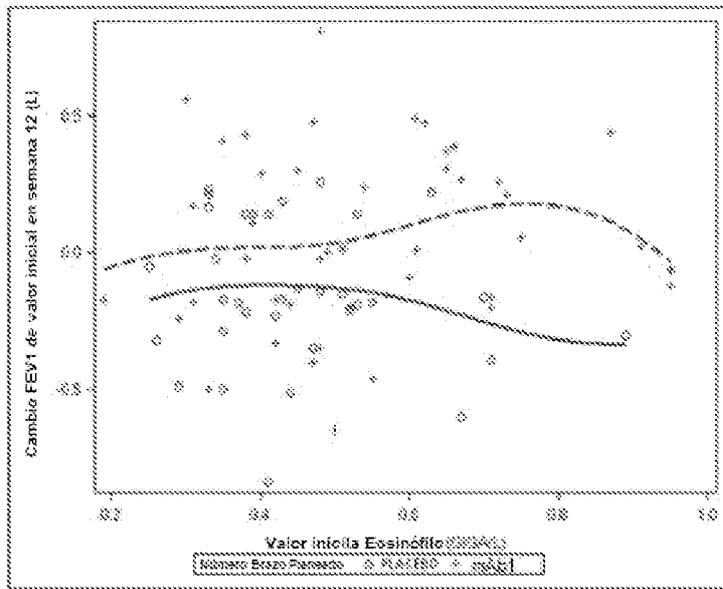


Figura 19

ACQ frente a Eosinófilos en Sangre

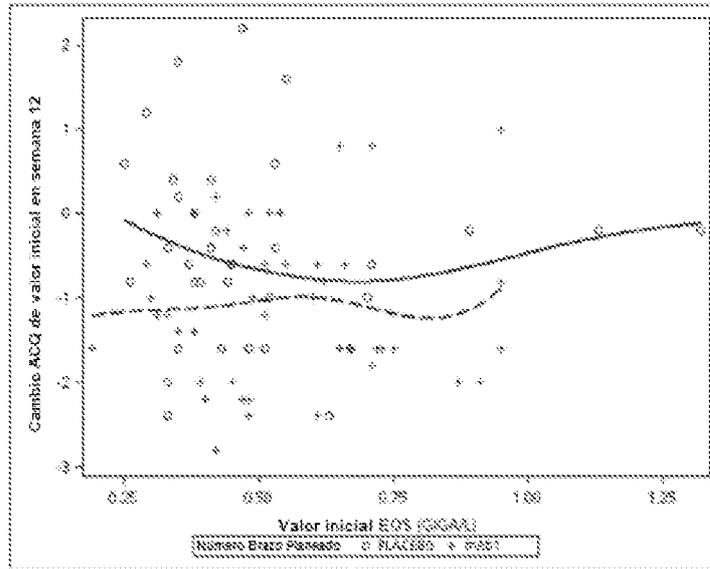


Figura 20

Uso Abuterol frente a Eosinófilos en Sangre

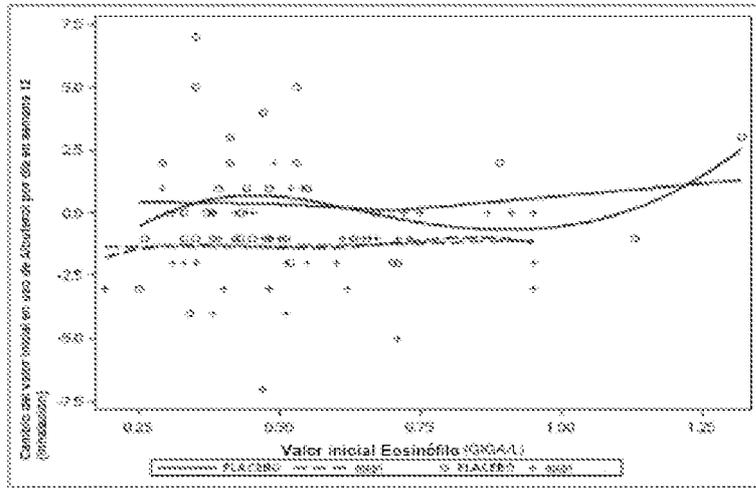


Figura 21

ACQ frente a periotina

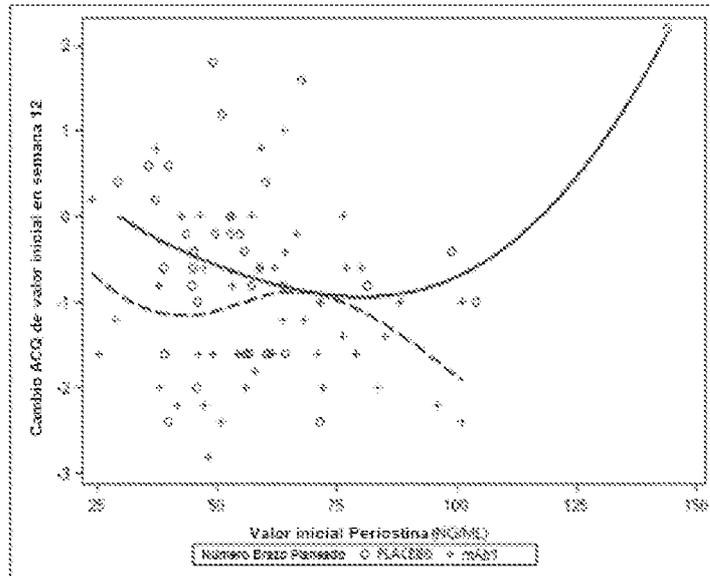


Figura 22

ACQ frente a YKL-40

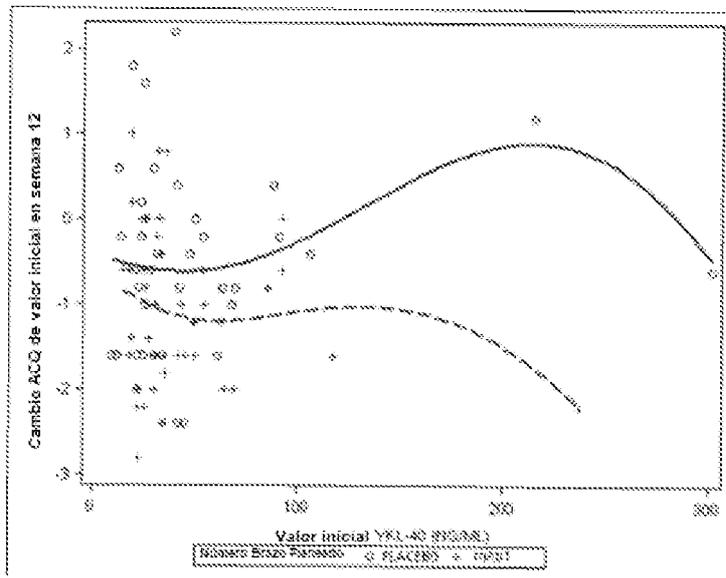


Figura 23

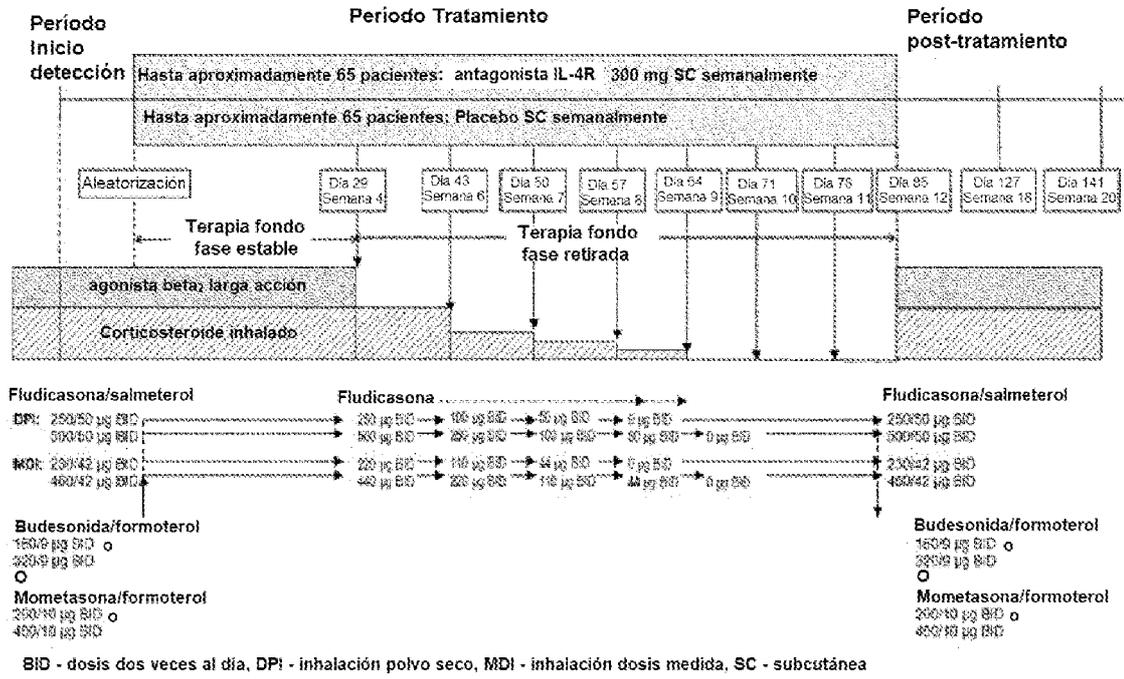


Figura 24

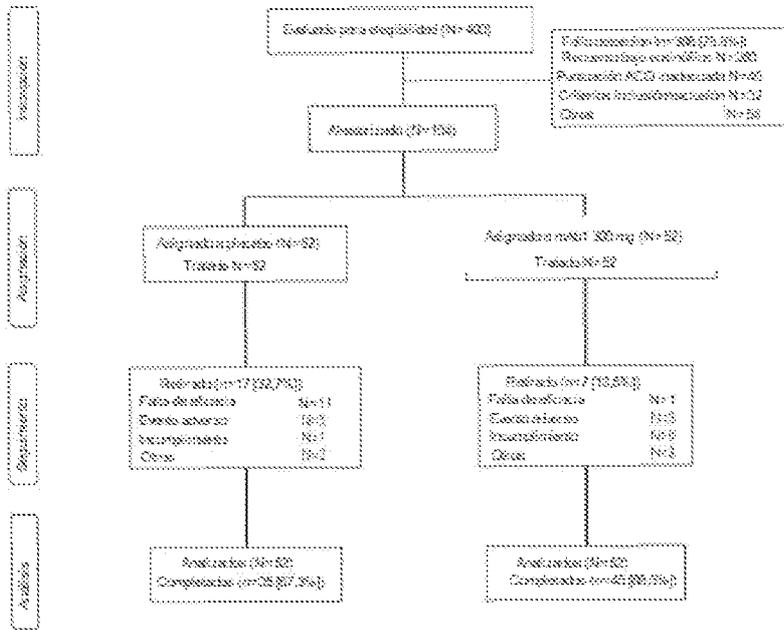


Figura 25

A) Síntomas Asma Matutinos

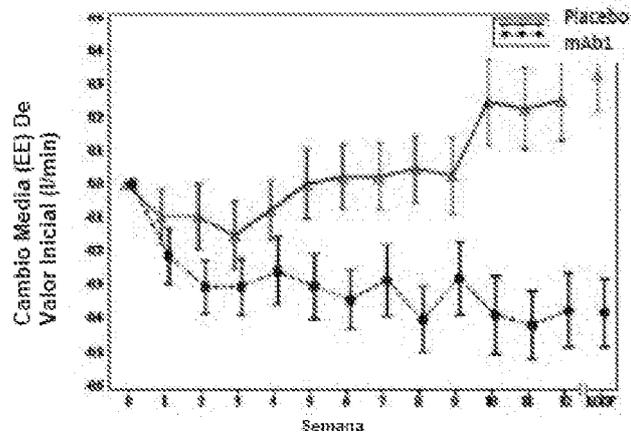


Figura 26A

B) Síntomas Asma Vespertinos

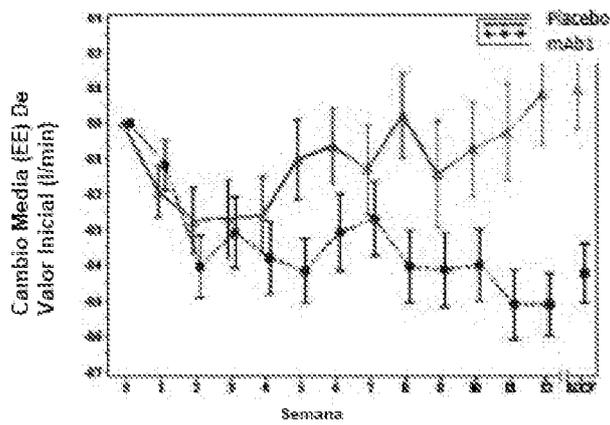


Figura 26B

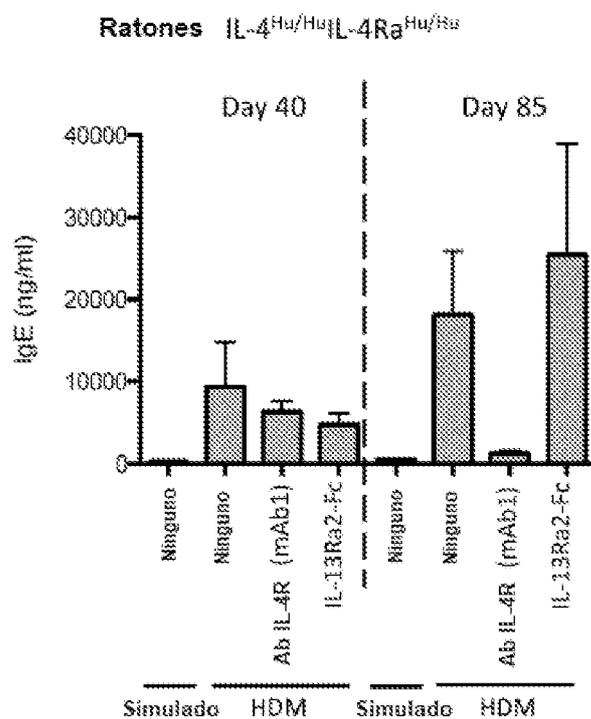


Figura 27

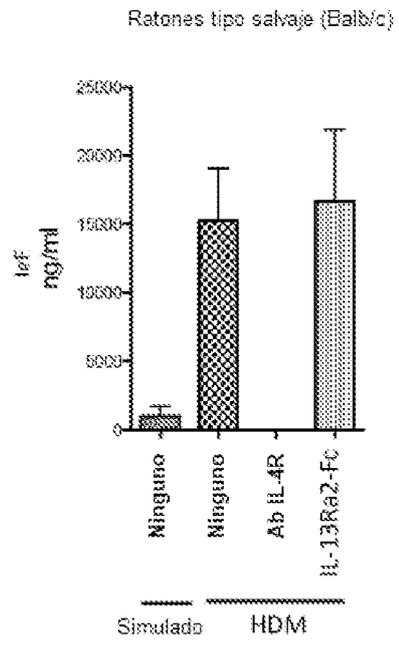


Figura 28

Ratones IL-4^{Hu/Hu} IL-4R^{Hu/Hu}

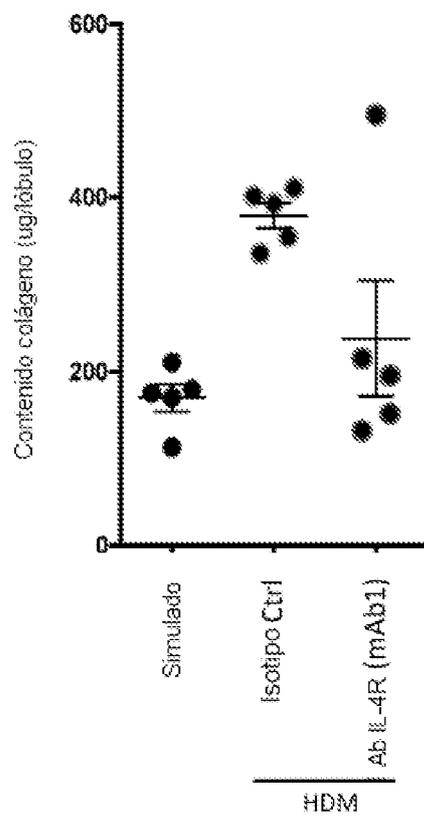


Figura 29

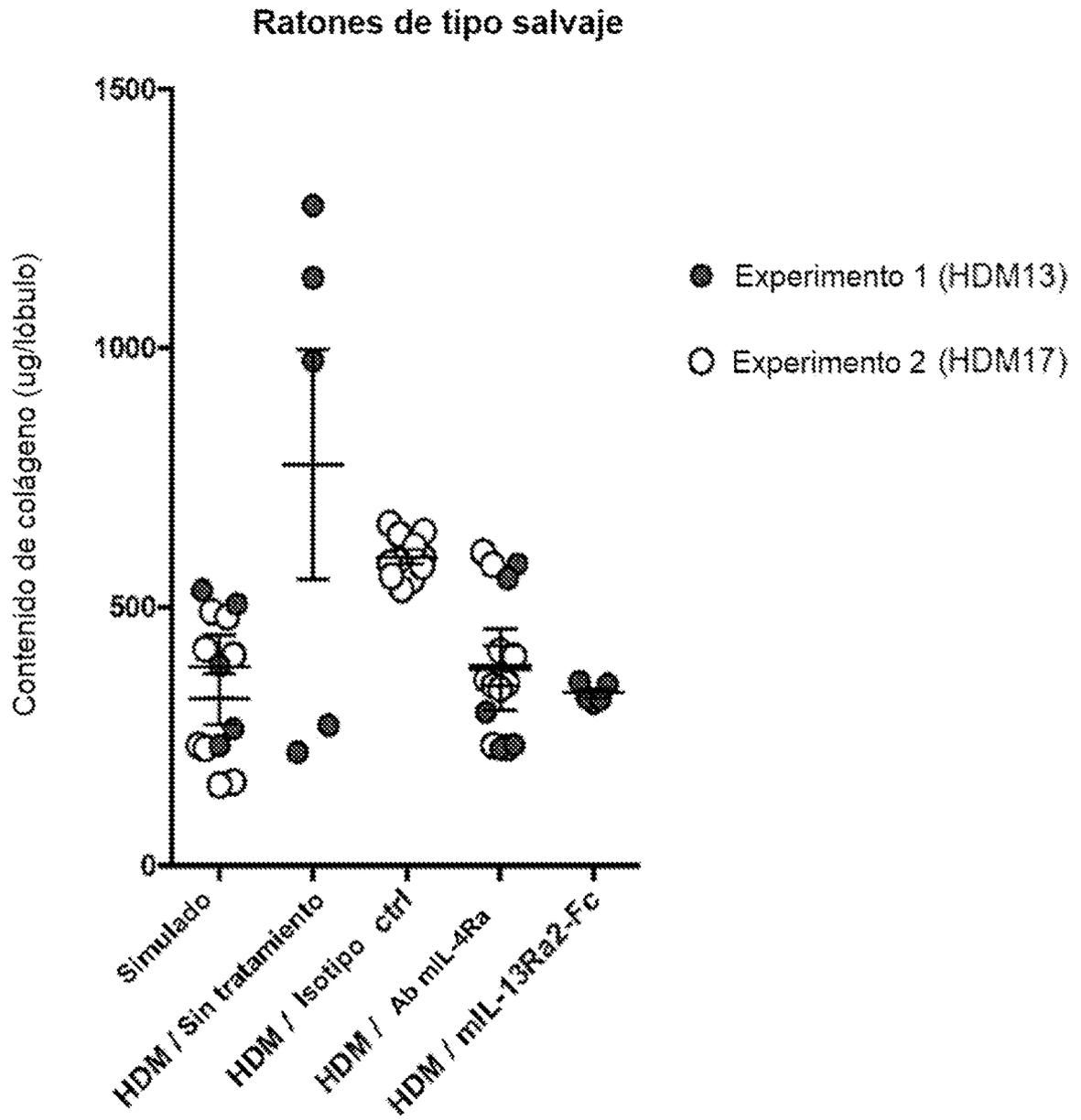


Figura 30

Ratones IL-4^{Hu/Hu} IL-4Ra^{Hu/Hu}

Figura 31A.

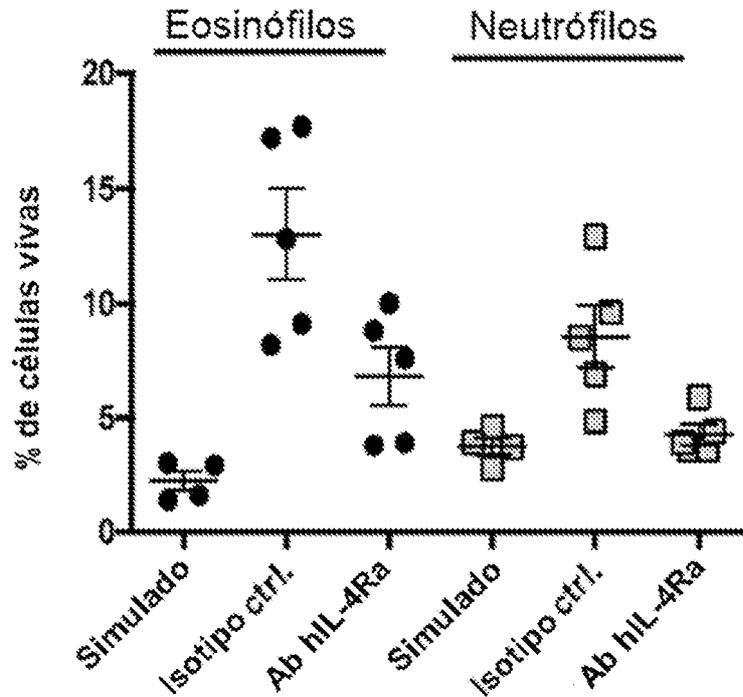


Figura 31B.

