

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 831 852**

51 Int. Cl.:

C07K 16/28 (2006.01)

C07K 16/40 (2006.01)

C07K 14/715 (2006.01)

A61K 38/20 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **16.03.2017 PCT/IB2017/000388**

87 Fecha y número de publicación internacional: **21.09.2017 WO17158436**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.03.2017 E 17719707 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.10.2020 EP 3430055**

54 Título: **Proteínas de fusión que se dirigen a macrófagos asociados a tumores para tratar el cáncer**

30 Prioridad:

17.03.2016 US 201662309704 P

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

09.06.2021

73 Titular/es:

**OSLO UNIVERSITETSSYKEHUS HF (100.0%)
Postboks 450, Nydalen
0424 Oslo, NO**

72 Inventor/es:

TVEITA, ANDERS

74 Agente/Representante:

GONZÁLEZ PECES, Gustavo Adolfo

Observaciones:

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

ES 2 831 852 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

Proteínas de fusión que se dirigen a macrófagos asociados a tumores para tratar el cáncer

Campo de la invención

La presente invención se refiere a la inmunoterapia contra el cáncer. En particular, se proporcionan en el presente documento proteínas de fusión para dirigirse a macrófagos asociados a tumores con agentes inmunoestimuladores.

Antecedentes de la invención

A pesar de los avances en nuestra comprensión y gestión del cáncer, la mayoría de los pacientes con cáncer seguirán muriendo debido a la enfermedad. Para muchos grupos de pacientes, el pronóstico es terrible, con pocos o sin ningún regímenes de tratamiento curativos disponibles. Además, el desarrollo de resistencia y recidivas de la enfermedad es una situación común. Existe por tanto una necesidad no satisfecha para el desarrollo de novedosas terapias que se basen en mecanismos de acción fundamentalmente diferentes.

La capacidad del sistema inmunitario para combatir el cáncer se ha demostrado claramente en años recientes, resaltado por el éxito clínico y comercial masivo de los inhibidores del punto de control inmunitario. Una de las ventajas clave ofrecidas por estos fármacos es que tienen el potencial de tratar algunos tipos de cánceres y se suministran sin receta. A diferencia de las inmunoterapias personalizadas tales como la terapia adoptiva de linfocitos T o vacunas de células dendríticas (DC), estas no se basan en la personalización para cada paciente. Por otro lado, solo el 10-30 % de los pacientes responden adecuadamente, y los inhibidores del punto de control tienen un perfil de seguridad desafiante.

Los macrófagos asociados a tumores (TAM) representan hasta un 50 % de la masa tumoral. Los TAM constituyen una población extremadamente heterogénea; se originan a partir de los monocitos de la sangre, que se diferencian en tipos de macrófagos distintos, esquemáticamente identificados como M1 (o activados clásicamente) y M2 (o activados alternativamente). Se acepta ahora generalmente que los TAM tienen un fenotipo M2 y muestran funciones protumorales principalmente, promoviendo la supervivencia, proliferación, y diseminación de células tumorales. Altos niveles de TAM están frecuentemente correlacionados, aunque no siempre, con un mal pronóstico, y recientes estudios han resaltado también un vínculo entre su abundancia y el proceso de metástasis. Esta evidencia patológica se ha confirmado también en el nivel génico, donde firmas moleculares asociadas con un mal pronóstico en linfomas y carcinomas de mama incluyen genes característicos de macrófagos. El documento WO 2015/103928 desvela IL-15 fusionada a Fc.

Lo que se necesita en la técnica son agentes y procedimientos adicionales que se puedan usar para tratar muchos tipos diferentes de cánceres y tumores.

Sumario de la invención

La presente invención se refiere a la inmunoterapia contra el cáncer. En particular, se proporcionan en el presente documento proteínas de fusión para dirigirse a macrófagos asociados a tumores con agentes inmunoestimuladores.

Por ejemplo, en algunas realizaciones, la presente invención proporciona una proteína de fusión, que comprende un agente inmunoestimulador (por ejemplo, un polipéptido IL15 o un fragmento del mismo) fusionado a una unidad de direccionamiento que dirige el agente inmunoestimulador a un macrófago asociado a tumor. En algunas realizaciones, la unidad de direccionamiento se une a CD206. En algunas realizaciones, la unidad de direccionamiento es una inmunoglobulina o fragmento de la misma que se une específicamente a CD206. En algunas realizaciones, la inmunoglobulina es un anticuerpo de dominio único (sdAb) o fragmentos variables monocatenarios (scFv), aunque se contemplan específicamente otros anticuerpos o fragmentos de anticuerpos. En algunas realizaciones, el agente inmunoestimulador es el dominio sushi del receptor alfa de IL15 (IL15ra-sushi). En algunas realizaciones, un sdAb específico de CD206 se fusiona al IL15ra-sushi mediante un enlazador para servir como la molécula terapéutica 206RLI. La presente divulgación no se limita a agentes inmunoestimuladores concretos. Los ejemplos incluyen, aunque no de forma limitativa, citoquinas (por ejemplo, interferón alfa, interferón gamma, interleuquina-21, interleuquina-17, interleuquina-18, interleuquina-27, TNF- α , interleuquina 2, interleuquina 7, interleuquina 12); ligandos coestimuladores (por ejemplo, 41bb, CD80, CD86); y fragmentos de anticuerpos con actividad agonista o antagonista contra los puntos de control inmunitarios (por ejemplo, anti-PD1, anti-CTLA4, etc.). La presente divulgación no está limitada a unidades de direccionamiento o dianas concretas. Los ejemplos incluyen, aunque no de forma limitativa, el receptor de manosa (CD206), el receptor beta de folato (FOLR2) y leugmain (LGMN).

Por consiguiente, en algunas realizaciones de la invención, la unidad de direccionamiento se une a una proteína seleccionada entre el grupo que consiste en CD206, FOLR2, LGMN, CD204, CD163 y CD301. En algunas realizaciones, la unidad de direccionamiento es una proteína de unión a antígeno que se une específicamente a CD206. En algunas realizaciones, la proteína de unión a antígeno se selecciona entre el grupo que consiste en un dominio variable único de inmunoglobulina y un fragmento variable monocatenario (scFv). En algunos aspectos de la divulgación, el dominio variable único de inmunoglobulina es un nanocuerpo. En algunos aspectos, el nanocuerpo se une a CD206. En algunos aspectos, el nanocuerpo se selecciona entre el grupo que consiste en nanocuerpos que

- 5 tienen una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo que consiste en las SEQ ID NOS: SEQ ID NOS: 30-56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108 y 112 y los nanocuerpos que tienen al menos un 80 % de identidad con las secuencias. En algunos aspectos, el nanocuerpo tiene una CDR1, una CDR2 y/o una CDR3 o una variante de las mismas procedente de la lista de las CDR que se unen a CD206 en la Tabla 1. En algunos aspectos, el dominio variable único de inmunoglobulina se une a FOLR2. En algunos aspectos, el dominio variable único de inmunoglobulina tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo que consiste en SEQ ID NO: 122 y los fragmentos de anticuerpos de dominio único que tienen al menos un 80 % de identidad con la secuencia. En algunos aspectos, el nanocuerpo tiene una CDR1, una CDR2 y/o una CDR3 o una variante de las mismas procedente de la lista de las CDR que se unen a FOLR2 en la Tabla 1.
- 10 En algunos aspectos, el agente inmunoestimulador se selecciona entre el grupo que consiste en interleuquina, un interferón y un factor de necrosis tumoral. En algunos aspectos, la interleuquina se selecciona entre grupo que consiste en IL-1 β , IL-2, IL-7, IL-8, IL-12, IL-15, IL-17, IL-18, IL-21, IL-23, IL-27 e IL-33. En algunas realizaciones de la invención, la interleuquina se selecciona entre grupo que consiste en un polipéptido IL15, el receptor alfa de IL15 o un fragmento de fusión del mismo. En algunos aspectos de la divulgación, el interferón se selecciona entre grupo que consiste en
- 15 IL-1 β , IL-2, IL-7, IL-8, IL-12, IL-15, IL-17, IL-18, IL-21, IL-23, IL-27 e IL-33. En algunos aspectos, el factor de necrosis tumoral se selecciona entre el grupo que consiste en un CD40L, EDA, FASL, LTA, LTB, RANKL, OX40L, TNF, TNFSF7, TNFSF8, TNFSF9, TNFSF12, TNFSF13, TNFSF13B, F18, TRAIL, BAFF, 4-1BBL y 4-1BB.
- 20 En algunos aspectos, la unidad de direccionamiento y el agente inmunoestimulador están conectados por un enlazador. En algunos aspectos, el enlazador tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo que consiste en SEQ ID NO: 109, SEQ ID NO:110 y SEQ ID NO: 147.
- En algunos aspectos, la proteína de fusión tiene una secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia de ácidos nucleicos seleccionada entre el grupo que consiste en las SEQ ID NOS:1, 138-146 y 153-170 y secuencias que tienen al menos un 80 % de identidad con las secuencias de aminoácidos.
- 25 Las realizaciones adicionales de la invención proporcionan un ácido nucleico que codifica la proteína de fusión y vectores que comprenden el ácido nucleico.
- Otras realizaciones adicionales proporcionan una composición farmacéutica que comprende la proteína de fusión descrita en el presente documento. En algunas realizaciones, la composición comprende además al menos un transportador, adyuvante, o diluyente farmacéuticamente aceptable.
- 30 En algunas realizaciones, la presente invención proporciona proteínas de unión a antígeno que comprenden una CDR1, CDR2 y/o CDR3 y CDR que tienen al menos un 80 % identidad con la CDR1, CDR2 y/o CDR3 a partir de una secuencia de aminoácidos de un dominio variable único de inmunoglobulina que se une a CD206 o FOLR2 como se identifica en la Tabla 1. En algunas realizaciones, la proteína de unión a antígeno se une a CD206. En algunas realizaciones, la proteína de unión a antígeno se une a FOLR2.
- 35 En algunas realizaciones, la proteína de unión a antígeno se selecciona entre el grupo que consiste en una inmunoglobulina y fragmentos de la misma, una inmunoglobulina humanizada o un fragmento de la misma, un anticuerpo monocatenario (scFV) y un dominio variable único de inmunoglobulina. En algunas realizaciones, la proteína de unión a antígeno es un dominio variable único de inmunoglobulina. En algunas realizaciones, el dominio variable único de inmunoglobulina se deriva de un anticuerpo de camélido. En algunas realizaciones, el dominio variable único de inmunoglobulina comprende la secuencia de un nanocuerpo(V_HH).
- 40 En algunas realizaciones, el dominio variable único de inmunoglobulina tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo que consiste en las SEQ ID NOS: 30-56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, y 108 y secuencias que tienen al menos un 80 % de identidad con las secuencias. En algunas realizaciones, el dominio variable único de inmunoglobulina comprende una secuencia de aminoácidos que comprende 4 regiones marco (FR) y 3 regiones determinantes de la complementariedad (CDR) de acuerdo con la fórmula siguiente (1): FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4 (1); o cualquier fragmento adecuado del mismo.
- 45 En algunas realizaciones, la proteína de unión a antígeno se fusiona a un resto seleccionado entre el grupo que consiste en un agente inmunoestimulador, una toxina, un fármaco citotóxico, una enzima que puede convertir un profármaco en un fármaco citotóxico, un radionucleido, una célula citotóxica; y en el que el dominio se fusiona al resto directamente o a través de un enlazador. En algunas realizaciones, la proteína de unión a antígeno se fusiona, ya sea directamente o a través de un enlazador, a una etiqueta detectable.
- 50 En algunas realizaciones, la presente invención proporciona un ácido nucleico que codifica la proteína de unión a antígeno o la fusión como se ha descrito anteriormente. En algunas realizaciones, la presente invención proporciona un vector que comprende las secuencias de ácidos nucleicos descritas. En algunas realizaciones, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende la proteína de unión a antígeno o la fusión como se ha descrito anteriormente. En algunas realizaciones, las composiciones comprenden además al menos uno de un transportador, adyuvante, o diluyente farmacéuticamente aceptable.
- 55

Las realizaciones adicionales proporcionan procedimientos para inducir una respuesta inmuno-específica contra el cáncer, que comprende: administrar una proteína de fusión como se describe en el presente documento a un sujeto diagnosticado con cáncer en condiciones tales que el sujeto genera o amplifica una respuesta inmunitaria ya existente contra las células cancerosas del sujeto. En algunas realizaciones, el cáncer es, por ejemplo, cáncer de pulmón, cáncer de mama, cáncer de páncreas, cáncer de próstata, melanoma o mieloma múltiple. En algunas realizaciones, la respuesta inmunitaria destruye las células cancerosas. En algunas realizaciones, la respuesta inmunitaria da como resultado la regresión del tumor.

Otras realizaciones más proporcionan la proteína de fusión de acuerdo con la invención para su uso en el tratamiento del cáncer, que comprende: administrar una proteína de fusión como se describe en el presente documento a un sujeto al que se ha diagnosticado cáncer en condiciones tales que el cáncer se reduzca o elimine. En algunos aspectos de la divulgación, el sujeto genera una respuesta inmunitaria al cáncer. En algunos aspectos, las condiciones tales que el cáncer se reduzca o elimine comprenden la regresión del tumor. En algunos aspectos, el cáncer se selecciona entre el grupo que consiste en cáncer de pulmón, cáncer de mama, cáncer de páncreas, cáncer de próstata, melanoma y mieloma múltiple.

Otros aspectos más proporcionan el uso de las proteínas de fusión descritas en el presente documento para generar una respuesta inmuno-específica contra el cáncer en un sujeto. En algunos aspectos, el cáncer es, por ejemplo, cáncer de pulmón, cáncer de mama, cáncer de páncreas, cáncer de próstata, melanoma o mieloma múltiple. En algunos aspectos, la respuesta inmunitaria destruye las células cancerosas. En algunos aspectos, la respuesta inmunitaria da como resultado la regresión del tumor.

En algunas realizaciones de la invención, la presente invención proporciona las proteínas de fusión descritas en el presente documento para su uso en el tratamiento del cáncer en un sujeto. En algunos aspectos de la divulgación, el sujeto genera una respuesta inmunitaria al cáncer. En algunos aspectos, las condiciones tales que el cáncer se reduzca o elimine comprenden la regresión del tumor. En algunas realizaciones de la invención, el cáncer se selecciona entre el grupo que consiste en cáncer de pulmón, cáncer de mama, cáncer de páncreas, cáncer de próstata, melanoma y mieloma múltiple.

Se describen en el presente documento realizaciones y aspectos adicionales.

Descripción de los dibujos

Fig. 1. Descripción esquemática de las proteínas de fusión ilustrativas. Fig. 1A. Una proteína diseñada mediante ingeniería genética que comprende una unidad de direccionamiento (un fragmento de anticuerpo) conectada a una citoquina inmunoestimuladora (interleuquina 15; IL15) a través de un enlazador flexible. Fig. 1B. Descripción esquemática de un tumor típico, donde las células cancerosas están incluidas en una red de células y vasos sanguíneos de soporte. La unidad de direccionamiento de la proteína se une a una estructura superficial (CD206) que se expresa en una clase de células; macrófagos asociados a tumores (TAM), que están presentes abundantemente en los tumores de la mayoría de tipos de cánceres humanos. La administración de la proteína de fusión da como resultado la unión específica a la superficie celular de estas células. Esto conduce a la acumulación de IL15 dentro del tumor, lo que sirve para activar las células inmunitarias infiltradoras de tumores (linfocitos T y linfocitos NK) para destruir las células cancerosas.

Fig. 2A. Un gel de SDS-PAGE que muestra el producto 206RLI en bruto del tamaño esperado (38 kDa) producido por esta solución que se muestra a la derecha.

Fig. 2B. Verificación mediante citometría de flujo de la unión del compuesto 206RLI purificado a las células diseñadas mediante ingeniería genética para expresar la CD206 humana (azul), que muestra la unión insignificante a las células del control (rojo). C. Ensayo de proliferación de linfocitos T que muestra la capacidad del 206RLI purificado para estimular el crecimiento de los linfocitos T CD4+ aislados de la sangre de donantes sanos. Cabe destacar que, se ha descubierto que la actividad biológica es superior a la de la interleuquina 15 recombinante (rhIL15).

Fig. 3A. El tratamiento con 206RLI conduce a la formación de una ulceración necrótica central dentro de los tumores en unos pocos días y una rápida y drástica contracción de los tumores.

Fig. 3B. En el día +10, el lecho del tumor se redujo a un tejido cicatrizado denso en la mayoría de los ratones.

Fig. 4. Transferencia Western usando un mAB dirigido contra IL15.

Fig. 5. Resultados de citometría de flujo usando un anticuerpo dirigido contra IL15 conjugado con APC.

Fig. 6. Resultados de un ensayo de proliferación de CTLL-2.

La Fig. 7. presenta resultados que muestran que la función inductora de la proliferación de la proteína de fusión 206Nb-hIL15 fue superior a la de rhIL15 cuando se usó en los ensayos de CTLL-2.

Fig. 8. Transferencia Western usando un mAB dirigido contra IL2.

Fig. 9. Resultados que muestran que los efectos inductores de la proliferación de una proteína de fusión 206Nb-hIL2 exceden los de rhIL2 en un ensayo de CTLL-2.

Fig. 10. Gel de proteína que demuestra la purificación de una proteína de fusión CL10scFv-IL15RLI.

Fig. 11. Resultado de citometría de flujo que muestra la unión de la proteína de fusión CL10scFv-IL15RLI a células NS0 que expresan mFOLR2.

Fig. 12. Resultados de citometría de flujo que utiliza la proteína de fusión 206Nb-RLI para teñir macrófagos del tipo M2 tratados con IL-4.

Fig. 13. Los resultados de citometría de flujo muestran una unión preferente de FOLR2-RLI en comparación con la fracción Ly6GNegLy6CNeg y las células CD11bNeg, consistente con la reactividad de la proteína de fusión frente a los macrófagos asociados a tumores.

Definiciones

- 5 Como se usa en el presente documento, el término "sujeto" se refiere a cualquier animal (por ejemplo, un mamífero), incluyendo, aunque no de forma limitativa, seres humanos, primates no humanos, roedores y similares, que son los receptores de un tratamiento concreto. Normalmente, los términos "sujeto" y "paciente" se usan indistintamente en el presente documento en referencia a un sujeto humano.
- 10 Como se usa en el presente documento, la expresión "sujeto sospechoso de tener cáncer" se refiere a un sujeto que presenta uno o más síntomas indicativos de un cáncer (por ejemplo, un bulto o masa notable), o que está siendo examinado por un cáncer (por ejemplo, durante un examen físico rutinario). Un sujeto sospechoso de tener cáncer también puede tener uno o más factores de riesgo. En general, a un sujeto sospechoso de tener cáncer no se le han realizado generalmente exploraciones para detectar cáncer. Sin embargo, un "sujeto sospechoso de tener cáncer" abarca a un individuo que ha recibido un diagnóstico preliminar (por ejemplo, una TC que muestra una masa) pero para el que no se ha realizado prueba confirmatoria (por ejemplo, biopsia y/o histología) o para quien no se conoce el estadio del cáncer. El término incluye además personas que una vez tuvieron cáncer (por ejemplo, un individuo en remisión). Un "sujeto sospechoso de tener cáncer" se ha diagnosticado alguna vez con cáncer y otras veces no tiene cáncer.
- 20 Como se usa en el presente documento, la expresión "sujeto diagnosticado con un cáncer" se refiere a un sujeto que se ha probado y encontrado que tiene células cancerosas. El cáncer puede diagnosticarse usando cualquier procedimiento adecuado, incluyendo, aunque no de forma limitativa, biopsia, rayos x, análisis de sangre, y los procedimientos diagnósticos de la presente invención. Un "diagnóstico preliminar" es uno basado solo en pruebas visuales (por ejemplo tomografía TC p la presencia de un bulto) y/o pruebas de cribado moleculares.
- 25 Como se usa en el presente documento, la expresión "diagnóstico inicial" se refiere al resultado de una prueba de diagnóstico inicial de cáncer que desvela la presencia o ausencia de células cancerosas (usando, por ejemplo, una biopsia e histología).
- Como se usa en el presente documento, la expresión "caracterización del cáncer en un sujeto" se refiere a la identificación de una o más propiedades de una muestra de cáncer en un sujeto, incluyendo, aunque no de forma limitativa, la presencia de un tejido precanceroso o canceroso benigno, y el estadio del cáncer.
- 30 Como se usa en el presente documento, la expresión "estadio del cáncer" se refiere a una evaluación cualitativa o cuantitativa del nivel de avance de un cáncer. Los criterios usados para determinar el estadio de un cáncer incluyen, aunque no de forma limitativa, el tamaño del tumor, si el tumor se ha diseminado a otras partes del cuerpo y cuando el cáncer se ha diseminado (por ejemplo, en el mismo órgano o región del cuerpo o en otro órgano).
- 35 La estadificación del cáncer puede también estar basada en los criterios revisados de la estadificación TNM por el American Joint Committee for Cancer (AJCC) publicados en 1988. La estadificación es el proceso de describir la extensión en la cual se ha diseminado el cáncer desde el sitio de su origen. Se usa para evaluar el pronóstico de un paciente para determinar la elección de la terapia. El estadio de un cáncer se determina por el tamaño y la localización en el cuerpo del tumor primario y si se ha diseminado a otras zonas del cuerpo. La estadificación implica usar las letras T, N y M para evaluar tumores por el tamaño del tumor primario (T); el grado en el cual están implicados los ganglios linfáticos regionales (N); y la ausencia o presencia de metástasis distantes (M)--cáncer que se ha diseminado desde el tumor original (primario) a órganos distantes o ganglios linfáticos distantes. Cada una de estas categorías se clasifica además con un número 1 a 4 para dar el estadio total. Una vez que se han determinado T, N y M, se asigna un "estadio" de I, II, III o IV. Los cánceres de estadio I son pequeños, localizados y normalmente curables. Los cánceres de estadio II y III normalmente están localmente avanzados y/o se han diseminado a los ganglios linfáticos locales. Los
- 40 cánceres de estadio IV normalmente son metastásicos (se han diseminado a partes distantes del cuerpo) y generalmente se consideran inoperables.
- 45 Como se usa en el presente documento, la expresión "caracterización del tejido en un sujeto" se refiere a la identificación de una o más propiedades de una muestra de un tejido (incluyendo, por ejemplo, aunque no de forma limitativa, la presencia de tejido canceroso, la presencia de tejido precanceroso que probablemente llegue a ser canceroso, y la presencia de tejido canceroso que probablemente va a metastatizar).
- 50 Como se usa en el presente documento, La expresión "proporcionar un pronóstico" se refiere a proporcionar información con respecto al impacto de la presencia de cáncer (por ejemplo, como se determinó mediante los procedimientos diagnósticos de la presente invención) sobre la salud futura de un sujeto (por ejemplo, morbilidad o mortalidad esperada, la probabilidad de tener cáncer, y el riesgo de metástasis).
- 55 Como se usa en el presente documento, la expresión "animales no humanos" se refiere a todos los animales no humanos que incluyen, aunque no de forma limitativa, vertebrados tales como roedores, primates no humanos, ovinos, bovinos, rumiantes, lagomorfos, porcinos, caprinos, equinos, canes, felinos, aves, etc.

Como se usa en el presente documento, la expresión "cultivo celular" se refiere a cualquier cultivo de células *in vitro*. incluidas en esta expresión está las líneas de células continuas (por ejemplo, con un fenotipo inmortal), cultivos celulares primarios, líneas de células transformadas, líneas de células finitas (por ejemplo, células no transformadas), y cualquier otra población celular mantenida *in vitro*.

- 5 Como se usa en el presente documento, el término "eucariota" se refiere a organismos distinguibles de "procariotas". Se pretende que el término abarque todos los organismos con células que presenten las características usuales de los eucariotas, tales como la presencia de un núcleo verdadero unido por una membrana nuclear, dentro del cual se encuentran los cromosomas, la presencia de orgánulos unidos a membranas, y otras características comúnmente observadas en organismos eucariotas. Por tanto, el término incluye, aunque no de forma limitativa dichos organismos como hongos, protozoos, y animales (por ejemplo, seres humanos).

10 Como se usa en el presente documento, la expresión "*in vitro*" se refiere a un entorno artificial y a procesos o reacciones que se producen dentro de un entorno artificial. Los entornos *in vitro* pueden consistir en, aunque no de forma limitativa, tubos de ensayo y cultivos celulares. La expresión "*in vivo*" se refiere al entorno natural (por ejemplo, un animal o una célula) y a los procesos o reacciones que se producen dentro de un entorno natural.

- 15 Las expresiones "compuesto de ensayo" y "compuesto candidato se refieren a cualquier entidad química, producto farmacéutico, fármaco, y similares que es un candidato para su uso para tratar o prevenir una enfermedad, dolencia, afección, o trastorno de la función corporal (por ejemplo, cáncer). Los compuestos de ensayo comprenden compuestos terapéuticos tanto conocidos como potenciales. Puede determinarse que un compuesto de ensayo es terapéutico mediante una exploración utilizando los procedimientos de exploración de la presente invención.

- 20 Como se usa en el presente documento, el término "muestra" se utiliza en su sentido más amplio. En un sentido, quiere decir que incluye un espécimen o cultivo obtenido de cualquier fuente, tal como muestras biológicas o ambientales. Las muestras biológicas se pueden obtener de animales (incluyendo seres humanos) y engloban fluidos, sólidos, tejidos y gases. las muestras biológicas incluyen hemoproductos, tales como plasma, suero y similares. Las muestras ambientales incluyen material ambiental tal como materia superficial, suelo, agua y muestras industriales.
- 25 Estos ejemplos no se tienen que considerar como limitantes de los tipos de muestra aplicables a la presente invención.

- Como se usa en el presente documento, el término "coadministración" se refiere a la administración de al menos dos agentes (por ejemplo, una composición descrita en el presente documento y un agente quimioterapéutico) o terapias para un sujeto. En algunas realizaciones, la coadministración de dos o más agentes/terapias es simultánea. En otras realizaciones, un primer agente/terapia se administra antes de un segundo agente/terapia. La posología apropiada para la coadministración puede determinarla fácilmente un experto en la materia. En algunas realizaciones, cuando se coadministran agentes/terapias, los agentes/terapias respectivos se administran a posologías más bajas que las adecuadas solo para su administración. Por tanto, la coadministración es especialmente deseable en realizaciones donde la coadministración de los agentes/terapias disminuye la posología requerida de un agente o agentes conocidos potencialmente perjudiciales (por ejemplo, tóxicos).

- 35 Como se usa en el presente documento, la expresión "composición farmacéutica" se refiere a la combinación de un agente activo con un transportador, inerte o activo, que hace que la composición sea especialmente adecuada para el uso diagnóstico o terapéutico *in vivo*, *in vivo* o *ex vivo*.

- Como se usa en el presente documento, la expresión "transportador farmacéuticamente aceptable" se refiere a cualquiera de los transportadores farmacéuticos convencionales, tales como solución salina tamponada con fosfato, agua, emulsiones (por ejemplo, tal como emulsiones de aceite en agua o emulsiones de agua en aceite), y diversos tipos de agentes humectantes. Las composiciones pueden incluir también estabilizantes y conservantes. Para los ejemplos de transportadores, estabilizantes y adyuvantes. (Véase, por ejemplo, Martin, Remington's Pharmaceutical Sciences, 15ª Ed., Mack Publ. Co., Easton, PA [1975]).

- 45 Como se usa en el presente documento, la expresión "agente de unión a antígeno" (por ejemplo, "proteína de unión a antígeno" o mimético de proteína, tal como un aptámero) se refiere a proteínas que se unen a un antígeno específico. "Las proteínas de unión a antígeno" incluyen, aunque no de forma limitativa, inmunoglobulinas, incluyendo anticuerpos policlonales, monoclonales, quiméricos, monocatenarios, de dominio único, y anticuerpos humanizados, fragmentos Fab, fragmentos F(ab')₂, y bibliotecas de expresión de Fab. Se usan diversos procedimientos conocidos en la técnica para la producción de anticuerpos policlonales. Para la producción de anticuerpos, se pueden inmunizar diversos animales hospedadores mediante una inyección con el péptido o proteína que contiene el epítipo deseado (incluyendo, aunque no de forma limitativa, conejos, ratones, ratas, ovejas, cabras, llamas, alpacas, etc. En una realización preferida, el péptido se conjuga con un transportador inmunógeno (por ejemplo, toxoide diftérico, albúmina de suero bovino (BSA), o hemocianina de lapa californiana (KLH). Se utilizan distintos adyuvantes para aumentar la respuesta inmunitaria, dependiendo de la especie hospedadora, incluyendo, aunque no de forma limitativa adyuvante de Freund (completo e incompleto), geles minerales tales como hidróxido de aluminio, sustancias tensioactivas tales como lisolecitina, polioles plurónicos, polianiones, péptidos, emulsiones de aceite, hemocianinas de lapa californiana, dinitrofenol, adyuvante de Gerbu, y adyuvantes humanos potencialmente útiles tales como BCG (Bacilo de Calmette-Guerin) y *Corynebacterium parvum*.

Como se usa en el presente documento, la expresión "Macrófago asociado a tumor" o "TAM" se refiere a células de linaje macrófago que se encuentran en estrecha proximidad con o dentro de masas tumorales.

Como se usa en el presente documento, la expresión "unidad de direccionamiento que dirige el agente inmunoestimulador a un macrófago asociado a tumor" se refiere a una unidad de direccionamiento (por ejemplo, proteína de unión a antígeno) que interactúa específicamente con un macrófago asociado a tumor (por ejemplo, uniéndose de forma específica a un receptor o molécula de la superficie celular sobre la superficie de un macrófago asociado a tumor). En algunas realizaciones, la unidad de direccionamiento no se une específicamente a macrófagos o células no asociados a tumores. En algunas realizaciones, la unidad de direccionamiento se une específicamente a CD206.

10 Para la preparación de anticuerpos monoclonales, se puede utilizar cualquier técnica que proporcione la producción de moléculas de anticuerpo mediante cultivo continuo de líneas celulares (véase, por ejemplo, Harlow y Lane, *Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY). Estos incluyen, aunque no de forma limitativa, la técnica del hibridoma desarrollada originalmente por Kohler y Milstein (Kohler y Milstein, *Nature*, 256:495-497 [1975]), así como la técnica del trioma, la técnica del hibridoma de linfocitos B humanos (Véase, por ejemplo, Kozbor y col., *Immunol. Today*, 4:72 (1983)), y la técnica del hibridoma del VEB para producir anticuerpos monoclonales humanos (Cole y col., en *Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy*, Alan R. Liss, Inc., págs. 77-96[1985]). En otras realizaciones, se preparan anticuerpos monoclonales adecuados, incluyendo anticuerpos monoclonales quiméricos recombinantes y proteínas de fusión de anticuerpos monoclonales quiméricos como se describe en el presente documento.

20 De acuerdo con la invención, Las técnicas descritas para la producción de anticuerpos monocatenarios (documento U.S. 4.946.778) se pueden adaptar para producir anticuerpos monocatenarios específicos según se desee. Una realización adicional de la invención utiliza las técnicas conocidas en la materia para la construcción de bibliotecas de expresión de Fab (Huse y col., *Science*, 246:1275-1281[1989]) para permitir la identificación rápida y fácil de fragmentos Fab monoclonales con la especificidad deseada.

25 En algunas realizaciones, se generan anticuerpos monoclonales usando el procedimiento ABL-MYC (Véase por ejemplo, patente de EE.UU. 5.705.150 y 5.244.656) (Neoclone, Madison, WI). ABL-MYC es un retrovirus recombinante que expresa constitutivamente los oncogenes v-abl y c-myc. Cuando se usa para activar esplenocitos activados por antígenos, el sistema retroviral induce rápidamente plasmacitomas específicos de antígeno. ABL-MYC dirige los linfocitos B estimulados por antígeno (estimulados por Ag) para la transformación.

30 En algunas realizaciones, la purificación por adsorción biológica como se describe en Games y col., *Nat Protoc.* 2014 Mar;9(3):674-93 se usa para generar anticuerpos de dominio único. En algunas realizaciones, para generar unidades de scFv, se usan estrategias de purificación por adsorción biológica, de las cuales existen algunos protocolos publicados disponibles.

35 Los fragmentos de anticuerpos que contienen el idiotipo (región de unión a antígeno) de la molécula de anticuerpo se pueden generar mediante técnicas conocidas. Por ejemplo, dichos fragmentos incluyen, aunque no de forma limitativa: el fragmento F(ab')₂ que se puede producir mediante digestión con pepsina de una molécula de anticuerpo; los fragmentos Fab' que se pueden generar reduciendo los puentes disulfuro de un fragmento F(ab')₂, y el fragmento Fab que se puede generar tratando una molécula de anticuerpo con papaína y un agente reductor.

40 Los genes que codifican proteínas de unión a antígeno se pueden aislar mediante procedimientos conocidos en la técnica. En la producción de anticuerpos, Se puede llevar a cabo el cribado del anticuerpo deseado mediante técnicas conocidas en la materia (por ejemplo, radioinmunoensayo, ELISA (enzimoinmunoanálisis de adsorción), inmunoensayos de tipo "sándwich", ensayos inmunoradiométricos, reacciones de precipitación mediante difusión en gel, ensayos de inmunodifusión, inmunoensayos *in situ* (usando oro coloidal, etiquetas enzimáticas o de radioisótopos, por ejemplo), transferencias Western, reacciones de precipitación, ensayos de aglutinación (por ejemplo, ensayos de aglutinación en gel, ensayos de hemoaglutinación, etc.), ensayos de fijación del complemento, ensayos de inmunofluorescencia, ensayos de proteína A, purificación por adsorción biológica mediante expresión en fago, y ensayos de inmunoelectroforesis, etc.) etc.

50 Como se usa en el presente documento, la expresión "agente inmunoestimulador" se refiere a cualquier agente que estimula una respuesta inmunitaria. En algunas realizaciones, la respuesta inmunitaria es una respuesta inmunocelular (por ejemplo, contra un macrófago asociado a tumor). En algunas realizaciones, el agente inmunoestimulador es una citoquina (por ejemplo, IL15 o un fragmento de la misma).

Descripción detallada de la invención

La presente invención se refiere a la inmunoterapia contra el cáncer. En particular, se proporcionan en el presente documento proteínas de fusión para dirigirse a macrófagos asociados a tumores (TAM, conocidos también como macrófagos infiltrantes de tumores) con agentes inmunoestimuladores.

La capacidad del sistema inmunitario para combatir el cáncer se ha demostrado claramente en años recientes, resaltado por el éxito clínico y comercial masivo de los inhibidores del punto de control inmunitario. Una de las ventajas

clave ofrecidas por estos fármacos es que tienen el potencial de tratar algunos tipos de cánceres y se suministran sin receta. A diferencia de las inmunoterapias personalizadas tales como la terapia adoptiva de linfocitos T o vacunas de células dendríticas (DC), estas no se basan en la personalización para cada paciente. Por otro lado, solo una minoría de pacientes responden adecuadamente, y los inhibidores del punto de control tienen un perfil de seguridad desafiante.

La presente invención abarca un nuevo concepto terapéutico universal que se dirige también a una amplia gama de tumores y se suministran sin receta médica, pero que tienen un mecanismo de acción radicalmente diferente. Mientras que los inhibidores del punto de control requieren una respuesta inmunitaria antitumoral preexistente en el paciente, la presente tecnología induce una respuesta inmunitaria focal inflamatoria antitumoral in situ del tejido canceroso mediante la administración dirigida de un agente inmunoestimulador (por ejemplo, como un ejemplo no limitativo, la citoquina IL15 intensamente proinflamatoria). Los datos presentados en el presente documento muestran la erradicación completa de tumores grandes establecidos en ratones en unos pocos días sin ningún signo de toxicidad. Véanse, por ejemplo, el ejemplo 2 y las Figs. 1-3.

Por consiguiente, se proporcionan en el presente documento proteínas de fusión recombinantes que comprenden una unidad de direccionamiento que se une a una proteína expresada o asociada con los TAM unida a un agente inmunoestimulador.

La proteína de fusión sirve como medio de administrar un agente inmunoestimulador directamente al sitio del tumor con un alto grado de especificidad y selectividad, activando localmente de este modo el sistema inmunitario para destruir células tumorales. Como la estructura diana (por ejemplo, como un ejemplo no limitativo, CD206) no está directamente localizada en las células malignas, sino en un tipo de célula presente en la mayoría de todos los tumores (por ejemplo, los TAM), se contempla que el compuesto es activo frente a una amplia variedad de tipos de cánceres.

A diferencia de los fármacos anticancerosos convencionales, las proteínas de fusión de la presente invención no son tóxicas por sí mismas, pero trabajan estimulando células inmunitarias para infiltrarse activarse y dividirse en el tumor. Los efectos secundarios del tratamiento son por tanto muy leves en comparación con los agentes citotóxicos, que inevitablemente producen daño al tejido sano. Por otra parte, el fármaco puede tener menos efectos no previstos que los inhibidores del punto de control, que pueden producir patologías autoinmunitarias graves y la destrucción del tejido debida a su actividad sistémica.

Los tumores en desarrollo son dependientes de la incorporación de células malignas que proporcionan soporte a las células cancerosas como nutrientes y factores requeridos para el crecimiento y la expansión. Los macrófagos constituyen una clase notable de dichas células de soporte, y están abundantemente presentes en tumores en la mayoría de tipos de cáncer humano. A diferencia de las células cancerosas, que son únicas para cada paciente, las células infiltrantes de tumores tales como macrófagos son estructuralmente idénticas entre individuos. A diferencia de los antígenos de células tumorales, las estructuras superficiales de los macrófagos infiltrantes de tumores no están sujetas a mutaciones e inmunoección.

Se ha intentado la destrucción de células de soporte tumoral tales como los TAM como estrategia para inhibir el crecimiento tumoral. Dichas estrategias pueden detener la progresión del tumor y, en algunos casos, han mostrado inducir la remisión, pero este tipo de tratamiento no es curativo. En lugar de agotar los TAM, la presente invención los utiliza como diana para administrar moléculas que inducen respuestas inmunitarias localizadas en los tumores.

La presente invención proporciona novedosas proteínas de fusión que se dirigen a los TAM con una molécula inmunoestimuladora. Por consiguiente, en algunas realizaciones, la presente invención proporciona proteínas de fusión que comprenden una unidad de direccionamiento en asociación operativa con un agente inmunoestimulador. En realizaciones preferidas, la unidad de direccionamiento es una proteína de unión a antígeno que se une a una molécula de proteína expresada o asociada de otra manera con los TAM. Por tanto, la unidad de direccionamiento se une preferentemente al TAM para llevar al agente inmunoestimulador muy cerca del TAM. La presente invención no se limita ninguna teoría concreta de funcionamiento, pero se apreciará que al dirigirse a los TAM con un agente inmunoestimulador, se estimula el sistema inmunitario para proporcionar una respuesta local en el sitio del tumor, dando como resultado la regresión y/o la destrucción del tumor por el sistema inmunitario. La presente invención no se limita al uso de ninguna unidad de direccionamiento concreta. En algunas realizaciones preferidas, la unidad de direccionamiento es una proteína de unión a antígeno. La proteína de unión a antígeno preferida incluye, aunque no de forma limitativa, nanocuerpos, anticuerpos de dominio único (sdAb), anticuerpos monocatenarios (scFv), inmunoglobulinas y fragmentos de las mismas que se unen a un antígeno (por ejemplo, fragmentos Fab). Asimismo, la presente invención no se limita a ningún agente inmunoestimulador concreto. Los agentes inmunoestimuladores adecuados incluyen, aunque no de forma limitativa, interleuquinas, interferones y factores de necrosis tumoral. En algunas realizaciones preferidas, la unidad de direccionamiento y el agente inmunoestimulador se asocian de manera operativa mediante un enlazador. El enlazador adecuado incluye, aunque no de forma limitativa, enlazadores de IgG2 de llama y enlazadores (G₄S)₃. Cada uno de estos componentes se describirá con más detalle a continuación.

1. Unidades de direccionamiento

Como se ha menciona anteriormente, la presente invención no se limita al uso de ninguna unidad de direccionamiento concreta. En algunas realizaciones preferidas, la unidad de direccionamiento es una proteína de unión a antígeno. La

proteína de unión a antígeno preferida incluye, aunque no de forma limitativa, inmunoglobulinas, un Fab, F(ab')₂, anticuerpo Fab' monocatenario, Fv, (ScFv) monocatenario, anticuerpo monoespecífico, anticuerpo biespecífico, anticuerpo triespecífico, anticuerpo multivalente, anticuerpo quimérico, anticuerpo humanizado, anticuerpo humano, anticuerpo injertado a la CDR, anticuerpo de tiburón, un dominio variable único de inmunoglobulina (por ejemplo, un nanocuerpo o un anticuerpo de dominio variable único), anticuerpo de camélido (por ejemplo, de la familia Camelidae) microcuerpo, intracuerpo (por ejemplo, anticuerpo intracelular), y/o anticuerpo defucosilado y/o un derivado de los mismos. Se proporcionan también miméticos de agentes de unión y/o anticuerpos.

En algunas realizaciones preferidas, las unidades de direccionamiento son proteínas de unión a antígeno que se unen específicamente a CD206, FOLR2, LGMN, CD204, CD163 o CD301. Cuando la unidad de direccionamiento es una proteína de unión a antígeno, la proteína de unión a antígeno puede identificarse y clonarse como se conoce en la técnica y como se describe con más detalle a continuación. Se pueden usar a continuación técnicas de ADN recombinante para producir una construcción que codifica una proteína de fusión que incluye la proteína de unión a antígeno en asociación operativa con un agente inmunoestimulador.

En algunas realizaciones, la unidad de direccionamiento es un dominio variable único de inmunoglobulina. Como se usa en el presente documento, un "dominio variable único de inmunoglobulina" es un dominio o fragmento de unión a antígeno que comprende una secuencia de aminoácidos que comprende cuatro regiones marco (FR) y tres regiones determinantes de la complementariedad (CDR) de acuerdo con la fórmula siguiente (1):

FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4 (1);

o cualquier fragmento adecuado de la misma (que usualmente contendrá a continuación al menos alguno de los restos de aminoácidos que forman al menos una de las regiones determinantes de la complementariedad), y en las que FR1 a FR4 se refieren a las regiones marco 1 a 4, respectivamente, y en el que CDR1 a CDR3 se refieren a las regiones determinantes de la complementariedad 1 a 3, respectivamente.

Las personas expertas en la materia conocen los dominios variables únicos de la inmunoglobulina que comprenden 4 FR y 3 CDR y que están descritos. Véanse, por ejemplo, Wesolowski J., V. Alzogaray, J. Reyelt, M. Unger, K. Juarez, M. Urrutia, A. Cauerhiff, W. Danquah, B. Rissiek, F. Scheuplin, N. Schwarz, S. Adriouch, O. Boyer, M. Seman, A. Licea, D. V. Serreze, F. A. Goldbaum, F. Haag, y F. Koch-Nolte. (2009). Single domain antibodies: promising experimental and therapeutic tools in infection and immunity *Med. Microbiol. Immunol.* 198, 157-174. Normalmente, pero sin limitación, los ejemplos de dominios variables únicos de inmunoglobulina incluyen secuencias de dominios variables de cadena ligera (por ejemplo, una secuencia del dominio V_L), o secuencias del dominio variable de cadena pesada (por ejemplo, una secuencia de dominio V_H), que se derivan usualmente de anticuerpos convencionales de cuatro cadenas. Preferentemente, los dominios variables únicos de inmunoglobulina se derivan de anticuerpos de camélido, preferentemente de anticuerpos de camélido de cadena pesada, desprovistos de cadenas ligeras, y se conocen como secuencias del dominio V_HH o nanocuerpos (como se describe adicionalmente en el presente documento).

En algunas realizaciones, la unidad de direccionamiento es un nanocuerpo. Un nanocuerpo (Nb) es el fragmento funcional más pequeño o dominio variable único (V_HH) de un anticuerpo monocatenario de origen natural y es conocido por el experto en la materia. Se derivan de anticuerpos solo de cadena pesada, observados en camélidos. Véanse, por ejemplo, Hamers-Casterman C., Atarhouch T., Muyldermans S., Robinson G., Hamers C., Songa E., Bendahman N y Hamers R., 1993, *Nature* 363, p. 446-448; Desmyter A., T. Transue., M. Ghahroudi, M. Dao-Thi, F. Poortmans, R. Hamers, S. Muyldermans y L. Wyns, 1996, *Nat. Struct. Biol.*, págs. 803-811. En la familia de "camélidos" se encuentran inmunoglobulinas desprovistas de cadenas polipeptídicas ligeras. Los "camélidos" comprende camélidos del viejo mundo (*Camelus bactrianus* y *Camelus dromedarius*) y camélidos del nuevo mundo (por ejemplo, *Lama paccos*, *Lama glama*, *Lama guanicoe* y *Lama vicugna*). El anticuerpo de cadena pesada de dominio variable único se designa en el presente documento como un nanocuerpo o un anticuerpo V_HH. Nanobody™, Nanobodies™ y Nanoclone™ son marcas comerciales de Ablynx NV (Bélgica). El tamaño pequeño y las propiedades biofísicas únicas de los Nbs sobresalen entre los fragmentos de anticuerpos convencionales para el reconocimiento de epítomos no habituales u ocultos y para la unión en cavidades o sitios activos de dianas de proteínas. Además, los Nbs se pueden diseñar como anticuerpos multiespecíficos y multivalentes (como se define adicionalmente en el presente documento) o se unen a moléculas indicadoras. Conrath K., M. Lauwereys, M. Galleni, A. Matagne, J-M. Frere, J. Kinne, L. Wyns, y S. Muyldermans (2001). beta-Lactamase Inhibitors Derived from Single-Domain Antibody Fragments Elicited in the Camelidae Antimicrob Agents. *Chemother* 45, 2807-2812. Los Nbs son estables, sobreviven en el sistema gastrointestinal y pueden fabricarse fácilmente. Por tanto, los Nbs se pueden usar en muchas aplicaciones incluyendo el descubrimiento y la terapia con fármacos, pero también como una herramienta versátil y valiosa para la purificación, el estudio funcional y la cristalización de proteínas. Véanse, por ejemplo, Saerens D., G. Ghassabeh, S. Muyldermans, 2008, *Current Opinion in Pharmacology* 8, págs. 600-608.

Los nanocuerpos de la invención comprenden generalmente una única cadena de aminoácidos que se puede considerar que comprende cuatro "regiones marco" o FR y tres "regiones determinantes de la complementariedad" o CDR, de acuerdo con la fórmula (1) (como se ha definido anteriormente). La expresión "región determinante de la complementariedad" o "CDR" se refiere a regiones variables en nanocuerpos y contiene las secuencias de aminoácidos capaces de unirse específicamente a dianas antigénicas. Estas regiones CDR son importantes para la especificidad básica del nanocuerpo de una estructura determinante antigénica concreta. Dichas regiones se denominan también "regiones hipervariables". Los nanocuerpos tienen tres regiones CDR, cada uno no contiguo con los otros (denominados CDR1, CDR2, CDR3). La delineación de las secuencias FR y CDR se basa a menudo en el

sistema de numeración única IMGT para los dominios V y los dominios de tipo V. (Véase, por ejemplo, Lefranc M. P., C. Pommie, y col. (2003). "IMGT unique numbering for immunoglobulin and T cell receptor variable domains and Ig superfamily V-like domains". *Developmental and Comparative Immunology* 27(1): 55-77.) Como alternativa, la delineación de las secuencias FR y CDR se puede llevar a cabo usando el sistema de numeración de Kabat como se aplica a los dominios V_HH de camélidos en el artículo de Riechmann y Muyldermans. (Véase, por ejemplo, Riechmann y Muyldermans J. *Immunol. Methods* 2000; 240: 185-195.) Como conocerá el experto en la materia, los nanocuerpos pueden caracterizarse en particular por la presencia de uno u más restos de Camelidae distintivos en una o más de las secuencias marco (de acuerdo con la numeración de Kabat), como se describe, por ejemplo, en el documento WO 08/020.079, en la página 75, Tabla A-3).

Los ejemplos no limitantes de nanocuerpos de acuerdo con la presente invención son como se describen en el presente documento e incluyen nanocuerpos dirigidos contra Ig humana, Ig de ratón y nanocuerpos dirigidos contra Ig humana/Ig de ratón que reaccionan en cruzado. En algunas realizaciones, los anticuerpos se unen específicamente a una de las siguientes proteínas sobre o en un Macrófago Asociado a Tumor (TAM): CD206 (receptor de manosa de macrófago(MMR); véase, por ejemplo, la publicación de patente de EE.UU. 20120301394), receptor beta de folato (FOLR2), legumain (LGMN), CD204, CD163 o CD301. En una realización específica, los nanocuerpos de la presente invención pueden comprender al menos una de las regiones determinantes de la complementariedad (CDR) derivadas de cualquiera de los nanocuerpos descritos en el presente documento. Preferentemente, los nanocuerpos de la presente invención comprenden una CDR1, una CDR2 y una CDR3 procedentes de uno de los nanocuerpos descritos en el presente documento. Más específicamente, los nanocuerpos, o un fragmento funcional de los mismos, se pueden seleccionar entre el grupo que comprende las SEQ ID NOS: 30-56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, y 112 que se unen a CD206 y a la SEQ ID NO: 122, que se une a FOLR2. Los nanocuerpos identificados por 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, y 112 son codones y con expresión optimizada. Un "fragmento funcional" o un "fragmento adecuado", como se usa en el presente documento, puede, por ejemplo, comprender uno de los bucles CDR. Preferentemente, el fragmento funcional comprende CDR3. Más específicamente, los nanocuerpos consisten en cualquiera de las SEQ ID NOS: 30-56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, y 112 que se unen a CD206 y a la SEQ ID NO: 122, que se une a FOLR2. En otra realización más, la secuencia de ácidos nucleicos que codifica cualquiera de los anteriores nanocuerpos o fragmentos funcionales es también parte de la presente invención (por ejemplo, las SEQ ID NOS: 3, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107 y 111, que codifica nanocuerpos que se unen a CD206 y la SEQ ID NO:123 que codifica un anticuerpo de dominio único (sdAM) o nanocuerpo que se une a FOLR2). Los nanocuerpos codificados por 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107 y 111 optimizados según la expresión y el codón. Además, la presente invención abarca también vectores de expresión que comprenden secuencias de ácidos nucleicos que codifican cualquiera de los anteriores nanocuerpos o los fragmentos funcionales de los mismos, así como las células hospedadoras que expresan dichos vectores de expresión. Los sistemas de expresión adecuados incluyen sistemas de expresión constitutivos e inducibles en bacterias o levaduras, sistemas de expresión vírica, tales como baculovirus, virus del bosque semliki y lentivirus o transfección transitoria en células de insectos o de mamíferos. Las células hospedadoras adecuadas incluyen *E. coli*, *Lactococcus lactis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Pichia pastoris*, y similares. Las células hospedadoras animales adecuadas incluyen HEK 293, COS, S2, CHO, NSO, DT40 y similares. La clonación, expresión y/o purificación de los nanocuerpos puede llevarse a cabo de acuerdo con técnicas conocidas por la persona experta en la materia. Por razones de claridad, se espera que al menos alguno de los nanocuerpos identificados en el presente documento pueda también reaccionar en cruzado con los receptores de manosa de macrófagos de otras especies de mamíferos.

Se entenderá que se pueden identificar nanocuerpos con referencia a la secuencia de nucleótidos y/o aminoácidos que corresponde a las regiones variables y/o las regiones determinantes de la complementariedad ("CDR") de los mismos. Por ejemplo, un nanocuerpo ilustrativo que se deriva, o está relacionado con los nanocuerpos descritos anteriormente puede comprender un dominio variable. Los dominios variables comprenden normalmente una o más CDR que en gran parte determinan la especificidad de unión del nanocuerpo. Los nanocuerpos de la presente invención pueden identificarse mediante el análisis de las de secuencia de nucleótidos que codifican las CDR o las regiones variables. Los nanocuerpos de la presente invención pueden también identificarse mediante el análisis de las secuencias de aminoácidos de (por ejemplo, que se pueden codificar por las secuencias de nucleótidos) de las CDR o las regiones variables. La Tabla 1 proporciona una identificación de las CDR de diversos nanocuerpos de la presente invención que se relacionan en la columna 1 de la tabla. En algunas realizaciones, la presente invención proporciona nanocuerpos en los que una, dos o las tres CDR del nanocuerpo tienen al menos un 60 %, 70 %, 80 %, 90 % o 100 % de identidad con las CDR identificadas para cada nanocuerpo. En otras palabras, la presente invención contempla que las variantes de las CDR relacionadas estén comprendidas en el ámbito de la invención y que las CDR puedan estar alteradas mediante, por ejemplo, mutaciones de sustitución, delección, o adición. Se reconocerá también que las CDR de los nanocuerpos que se unen a CD206 pueden sustituirse entre sí en un dominio variable de un nanocuerpo dado. Por ejemplo, una CDR1 de uno de los nanocuerpos puede sustituirse con una CDR1 de otro nanocuerpo en la Tabla 1, una CDR2 de uno de los nanocuerpos puede sustituirse con una CDR2 de otro nanocuerpo en la Tabla 1, y una CDR3 de uno de los nanocuerpos puede sustituirse con una CDR3 de otro nanocuerpo en la Tabla 1.

Tabla 1.

Identificador de la secuencia del nanocuerpo	CDR1	CDR2	CDR3	Proteína unida por un nanocuerpo
SEQ ID NO:30	GSIFTIN SEQ ID NO:171	ITSGGSTN SEQ ID NO:172	VVTTTPYSDY SEQ ID NO:173	CD206
SEQ ID NO:31	ARIFSSY SEQ ID NO:174	VNGGSSST SEQ ID NO:175	AGRAGPLAASYRYDY SEQ ID NO:176	CD206
SEQ ID NO:32	ARIFSSY SEQ ID NO:174	VNGGSSST SEQ ID NO:175	VVTTTPYSDY SEQ ID NO:173	CD206
SEQ ID NO:33	GSIFTIN SEQ ID NO:171	ITSGGSTN SEQ ID NO:172	AGRAGPLAASYRYDY SEQ ID NO:176	CD206
SEQ ID NO:34	GSIFTIN SEQ ID NO:171	ITRGGSTN SEQ ID NO:177	VVTTTPYSDY SEQ ID NO:173	CD206
SEQ ID NO:35	GSIFTIN SEQ ID NO:171	ITSGGSTN SEQ ID NO:172	VVTTTAYSDY SEQ ID NO:178	CD206
SEQ ID NO:36	GSIFTIN SEQ ID NO:171	ITSGGSTN SEQ ID NO:172	VVTTTPYSDY SEQ ID NO:173	CD206
SEQ ID NO:37	GSIFTIN SEQ ID NO:171	LTSGGSTN SEQ ID NO:179	VVTTTPYADY SEQ ID NO:180	CD206
SEQ ID NO:38	GSIFTIN SEQ ID NO:171	ITSGGSTN SEQ ID NO:172	VVTTTPYSDY SEQ ID NO:181	CD206
SEQ ID NO:39	GSIFTIN SEQ ID NO:171	ITSGGSTN SEQ ID NO:172	VVTTTPYSDY SEQ ID NO:173	CD206
SEQ ID NO:40	GSIFTIN SEQ ID NO:171	VNGGSSST SEQ ID NO:175	VVTTTPYSDY SEQ ID NO:173	CD206
SEQ ID NO:41	GSICTSN SEQ ID NO:182	ITSGGSTN SEQ ID NO:172	VVTTTPYSDY SEQ ID NO:173	CD206
SEQ ID NO:42	GLTFSIR SEQ ID NO:183	IMWSGGAT SEQ ID NO:184	VVTTTPYSDY SEQ ID NO:173	CD206
SEQ ID NO:43	WKHLHY SEQ ID NO:185	ITSGGSTN SEQ ID NO:172	VVTTTPYSDY SEQ ID NO:173	CD206
SEQ ID NO:44	GSIFTIN SEQ ID NO:171	ITSGGSTN SEQ ID NO:172	VVTTTPYSDY SEQ ID NO:173	CD206
SEQ ID NO:45	VSIFTIN SEQ ID NO:186	NTSGGSTN SEQ ID NO:187	VVTTTQYSDY SEQ ID NO:194	CD206
SEQ ID NO:46	GSIFTIN SEQ ID NO:171	ITSGGSTN SEQ ID NO:172	VVTTTPYSDY SEQ ID NO:173	CD206
SEQ ID NO:47	ARIFSSY SEQ ID NO:174	ITSGGSTN SEQ ID NO:172	VVTTTPYSDY SEQ ID NO:173	CD206
SEQ ID NO:48	GSLFTIN SEQ ID NO:188	ITSGGSTN SEQ ID NO:172	LVVPPTPYSVY SEQ ID NO:189	CD206
SEQ ID NO:49	GSIFTIN SEQ ID NO:171	ITSGGSTN SEQ ID NO:172	VVTTTPYSDY SEQ ID NO:173	CD206
SEQ ID NO:50	GSIFTIN SEQ ID NO:171	ITSGGSTN SEQ ID NO:172	VVTTTPYSDY SEQ ID NO:173	CD206
SEQ ID NO:51	GSIFTIN SEQ ID NO:171	STSGGSPN SEQ ID NO:190	GGGSSTPDSY SEQ ID NO:191	CD206

(continuación)

Identificador de la secuencia del nanocuerpo	CDR1	CDR2	CDR3	Proteína unida por un nanocuerpo
SEQ ID NO:52	GSIFTSN SEQ ID NO:192	ITSGGSTN SEQ ID NO:172	VVVTTTPYSDY SEQ ID NO:173	CD206
SEQ ID NO:53	GSIFTIN SEQ ID NO:171	ITSGGSTN SEQ ID NO:172	VVVTTTPYSDY SEQ ID NO:173	CD206
SEQ ID NO:54	GSIFTIN SEQ ID NO:171	ITSGGSTN SEQ ID NO:172	VVVTTTPEADY SEQ ID NO:193	CD206
SEQ ID NO:55	GSIFTIN SEQ ID NO:171	ITSGGSTN SEQ ID NO:172	VVVTTTPYSDY SEQ ID NO:173	CD206
SEQ ID NO:56	GSIFTIN SEQ ID NO:171	ITSGGSTN SEQ ID NO:172	VVVTTTPYSDY SEQ ID NO:173	CD206
SEQ ID NO:122	GRTFSNY SEQ ID NO:195	ISQSGSITY SEQ ID NO:196	GNSFKSNDHWASTY SEQ ID NO:197	FOLR2

Debe señalarse que el término nanocuerpo como se usa en el presente documento en su sentido más amplio no está limitado a una fuente biológica específica o a un procedimiento específico de preparación. Por ejemplo, los nanocuerpos de la invención se pueden obtener generalmente: (1) aislando el dominio V_HH de un anticuerpo de cadena pesada de origen natural; (2) mediante la expresión de una secuencia de nucleótidos que codifica un dominio V_HH de origen natural; (3) mediante "humanización" de un dominio V_HH de origen natural o mediante expresión de un ácido nucleico que codifica uno de dichos dominios V_HH humanizado; (4) mediante "camelización" de un dominio V_HH de origen natural de cualquier especie animal, y en particular de una especie de mamífero, tal como de un ser humano, o mediante la expresión de un ácido nucleico que codifica dicho dominio V_HH camelizado; (5) mediante "camelización" de un "anticuerpo de dominio" o "Dab" como se describe en la técnica, o mediante la expresión de un ácido nucleico que codifica dicho dominio de V_HH camelizado; (6) usando técnicas sintéticas o semisintéticas para preparar proteínas, polipéptidos u otras secuencias de aminoácidos conocidas per se; (7) preparando un ácido nucleico que codifica un nanocuerpo usando técnicas para la síntesis de ácidos nucleicos conocidas per se, seguido por la expresión del ácido nucleico obtenido de esta manera; y/o (8) mediante cualquier combinación de uno o más de los anteriores.

Una clase preferida de nanocuerpos corresponde a los dominios V_HH de anticuerpos de cadena pesada de origen natural dirigidos contra un receptor de manosa de macrófago, también conocido como CD206. Como se ha descrito adicionalmente en el presente documento, dichas secuencias de V_HH pueden generarse u obtenerse generalmente inmunizando adecuadamente una especie de camélido con un MMR (es decir, con el fin de generar una respuesta inmunitaria y/o anticuerpos de cadena pesada dirigidos contra un MMR), obteniendo una muestra biológica adecuada del camélido (tal como una muestra de sangre, o cualquier muestra de linfocitos B), y generando secuencias de V_HH dirigidas contra un MMR, comenzando a partir de la muestra, usando cualquier técnica adecuada conocida per se. Dichas técnicas resultarán evidentes para la persona experta. Como alternativa, dichos dominios V_HH de origen natural contra MMR se pueden obtener de bibliotecas no expuestas anteriormente a tratamiento de secuencias de V_HH de camélido, por ejemplo, cribando dicha biblioteca usando MMR o al menos una parte, fragmento, determinante antigénico o epítipo del mismo usando una o más técnicas de cribado conocidas per se. Dichas bibliotecas y técnicas se describen, por ejemplo, en los documentos WO9937681, WO0190190, WO03025020 y WO03035694. Como alternativa, se pueden usar bibliotecas sintéticas o semisintéticas mejoradas derivadas de bibliotecas de V_HH no expuestas anteriormente a tratamiento, dichas bibliotecas de V_HH se obtienen de bibliotecas de V_HH no expuestas anteriormente a tratamiento tales como mutagénesis aleatoria y/o mezcla de CDR, como, por ejemplo, se describe en el documento WO0043507. Otra técnica para obtener secuencias de V_HH dirigidas contra un MMR implican inmunizar adecuadamente un mamífero transgénico que sea capaz de expresar anticuerpos de cadena pesada (es decir, con el fin de generar una respuesta inmunitaria y/o anticuerpos de cadena pesada dirigidos contra un MMR), obteniendo una muestra biológica adecuada del mamífero transgénico (tal como una muestra de sangre, o cualquier muestra de linfocitos B), y generando secuencias de V_HH dirigidas contra un MMR comenzando a partir de la muestra, usando cualquier técnica adecuada conocida per se. Por ejemplo, para este fin, Se pueden usar ratones que expresan anticuerpos de cadena pesada y los procedimientos y técnicas adicionales descritos en los documentos WO02085945 y en WO04049794.

Por consiguiente, la invención abarca procedimientos para generar dominios variables únicos de inmunoglobulina de acuerdo con la invención. Como ejemplo no limitante, se proporciona un procedimiento para generar nanocuerpos dirigidos contra o específicamente la unión a una proteína expresada o asociada con un TAM (por ejemplo, CD206, FOLR2, LGMN, CD204, CD163 o CD301, denominada en su conjunto como proteína de direccionamiento a TAM) mediante la inmunización de un animal con la proteína de direccionamiento a TAM deseada. Para la inmunización de un animal con la proteína de direccionamiento a TAM, la proteína de direccionamiento a TAM puede producirse y purificarse usando procedimientos convencionales que pueden emplear la expresión de una forma recombinante de la proteína de direccionamiento a TAM en una célula hospedadora, y purificar la proteína de direccionamiento a TAM usando cromatografía de afinidad y/o procedimientos basados en anticuerpos. Cualquier animal adecuado, por

ejemplo, un animal de sangre caliente, en particular un mamífero tal como un conejo, ratón, rata, camello, oveja, vaca, tiburón, o cerdo o un ave tal como un pollo o pavo, pueden inmunizarse usando cualquiera de las técnicas bien conocidas en la materia adecuadas para generar una respuesta inmunitaria. El cribado de los nanocuerpos, como ejemplo no limitante, especialmente la unión a una proteína de direccionamiento a TAM puede, por ejemplo, llevarse a cabo cribando un conjunto, colección o biblioteca de células que expresan anticuerpos de cadena pesada sobre su superficie (por ejemplo, linfocitos B obtenidos de un camélido inmunizado adecuadamente), o bacteriófagos que muestran una fusión de genIII y un nanocuerpo en su superficie, mediante el cribado de una biblioteca (no expuesta anteriormente a tratamiento o inmunitaria de secuencias de V_{HH} o secuencias de nanocuerpo, o mediante el cribado de una biblioteca (no expuesta anteriormente a tratamiento o inmunitaria de secuencias de ácidos nucleicos que codifican secuencias de V_{HH} o secuencias de nanocuerpos, que puede llevarse a cabo de una manera conocida per se, y cuyo procedimiento puede comprender opcionalmente de manera adicional una o más etapas diferentes adecuadas, tales como, por ejemplo, y sin limitación, una etapa de maduración por afinidad, una etapa de expresar la secuencia de aminoácidos deseada, una etapa de cribado para la unión y/o para la actividad contra el antígeno deseado (en este caso, la proteína de direccionamiento a TAM), una etapa para determinar la secuencia de aminoácidos deseada o una secuencia de nucleótidos, una etapa para introducir una o más sustituciones humanizantes, una etapa de edición en un formato multivalente y/o multiespecífico adecuado, una etapa de cribado de las propiedades biológicas y/o fisiológicas deseadas (es decir, usando un ensayo adecuado conocido en la técnica), y/o cualquier combinación de una o más de dichas etapas, en cualquier orden adecuado.

Una clase particularmente preferida de dominios variables únicos de la inmunoglobulina de la invención comprende nanocuerpos con una secuencia de aminoácidos que corresponde a la secuencia de aminoácidos de un dominio V_{HH} de origen natural, pero que se ha "humanizado", es decir, sustituyendo uno o más restos de aminoácidos en la secuencia de aminoácidos de la secuencia V_{HH} de origen natural (y en particular en las secuencias marco) mediante uno o más de los restos de aminoácidos que se producen en las posiciones correspondientes en un dominio V_H de un anticuerpo de cuatro cadenas convencional de un ser humano. Esto se puede llevar a cabo de una manera conocida per se, que resultará evidentes para la persona experta, sobre la base de la descripción adicional en el presente documento y en la técnica anterior sobre la humanización. De nuevo, debe señalarse que dichos nanocuerpos humanizados de la invención se pueden obtener de cualquier manera adecuada conocida per se (es decir, como se indica en los puntos (1)-(8) anteriores) y por tanto, no se limita estrictamente a los polipéptidos que se han obtenido usando un polipéptido que comprende un dominio V_{HH} de origen natural como material de partida. Los anticuerpos humanizados pueden tener varias ventajas, tales como una inmunogenicidad reducida, en comparación con los dominios V_{HH} de origen natural. Dicha humanización implica generalmente sustituir uno o más restos de aminoácidos en la secuencia de un V_{HH} de origen natural con los restos de aminoácidos que se producen en la misma posición en un dominio V_H humano, tal como un dominio $VH3$ humano. Las sustituciones humanizantes deben seleccionarse de tal manera que los nanocuerpos humanizados resultantes retengan todavía las propiedades favorables de los nanocuerpos como se ha definido en el presente documento. La persona experta será capaz de seleccionar sustituciones humanizantes o combinaciones adecuadas de sustituciones humanizantes que optimicen o consigan un equilibrio deseado o adecuado entre las propiedades favorables proporcionadas por las sustituciones humanizantes, por un lado y las propiedades favorables de los dominios V_{HH} de origen natural por otro lado.

Por ejemplo, la "humanización" y la "camelización" se pueden llevar a cabo proporcionando una secuencia de nucleótidos que codifica un dominio V_{HH} o dominio VH de origen natural, respectivamente, y a continuación cambiando, de una manera conocida per se, uno o más codones en la secuencia de nucleótidos de tal manera que la nueva secuencia de nucleótidos codifica un nanocuerpo "humanizado" o "camelizado" de la invención, respectivamente. Este ácido nucleico se puede expresar a continuación de una manera conocida per se, con el fin de proporcionar el nanocuerpo deseado de la invención. Como alternativa, basándose en la secuencia de aminoácidos de un dominio V_{HH} o dominio VH de origen natural, respectivamente, la secuencia de aminoácidos del nanocuerpo humanizado o camelizado de la invención, respectivamente, se puede diseñar, y a continuación sintetizarse de novo usando técnicas para la síntesis de péptidos conocidas per se. También, basándose en la secuencia de aminoácidos o nucleótidos de dominio V_{HH} o dominio VH de origen natural, respectivamente, una secuencia de nucleótidos que codifica el nanocuerpo humanizado o camelizado deseado de la invención, respectivamente, se puede diseñar y a continuación sintetizarse de novo usando técnicas para la síntesis de ácidos nucleicos conocidas per se, tras las cuales, el ácido nucleico obtenido de esta manera se puede expresar de una manera conocida per se, con el fin de proporcionar el nanocuerpo deseado de la invención. Otros procedimientos y técnicas adecuados para obtener los nanocuerpos la invención y/o los ácidos nucleicos que codifican los mismos, comenzando a partir de secuencias de VH de origen natural o preferentemente de secuencias de V_{HH} , será evidente a partir de la persona experta, y puede, por ejemplo, comprender combinar una o más partes de una o más secuencias de VH de origen natural (tales como una o más secuencias de FR y/o secuencias de CDR), una o más partes de una o más secuencias $V_{sub}HH$ de origen natural (tales como una o más secuencias de FR o secuencias de CDR), y/o una o más secuencias sintéticas o semisintéticas, de una manera adecuada, con el fin de proporcionar un nanocuerpo de la invención o una secuencia de nucleótidos o de ácidos nucleicos que codifica la misma.

También, comprendidos en el ámbito de la invención están los análogos naturales o sintéticos, mutantes, variantes, alelos, homólogos y ortólogos (denominados en su conjunto en el presente documento como "variantes") de los dominios variables únicos de la inmunoglobulina de la invención como se define en el presente documento. Por tanto, De acuerdo con una realización de la invención, la expresión "dominio variable único de inmunoglobulina de la

invención" en su sentido más amplio cubre también dichas variantes, en particular las variantes de los nanocuerpos de las SEQ ID NOS: 30-56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, y 112 que se unen a CD206 y a la SEQ ID NO: 122, que se une a FOLR2. En general, en dichas variantes, pueden estar sustituidos, eliminados y/o añadidos uno o más restos de aminoácidos, en comparación con los nanocuerpos de la invención como se ha definido en el presente documento. Dichas sustituciones, inserciones o deleciones pueden realizarse en una o más de las regiones marco y/o en una o más de las CDR. las variantes, como se usa en el presente documento, son secuencias en las que cada una o cualquiera de las regiones marco y cada una o cualquiera de las regiones determinantes de la complementariedad muestran al menos un 80 % de identidad, preferentemente un 85 % de identidad, más preferentemente un 90 % de identidad, incluso más preferentemente un 95 % de identidad o, de forma aún más preferentemente un 99 % de identidad con la región correspondiente en la secuencia de referencia (es decir, FR1_variante frente a FR1_referencia, CDR1_variante frente a CDR1_referencia, FR2_variante frente a FR2_referencia, CDR2_variante frente a CDR2_referencia, FR3_variante frente a FR3_referencia, CDR3_variante frente a CDR3_referencia, FR4_variante frente a FR4_referencia), como se puede medir electrónicamente haciendo uso de algoritmos tales como PILEUP y BLAST. (Véase, por ejemplo, Higgins & Sharp, CABIOS 5:151 (1989); Altschul S. F., W. Gish, W. Miller, E. W. Myers, D. J. Lipman. Basic local alignment search tool. J. Mol. Biol. 1990; 215:403-10.) El software para realizar el análisis BLAST está disponible públicamente a través del National Center for Biotechnology Information (en la worldwide web en ncbi.nlm.nih.gov/). Dichas variantes de dominios variables únicos de la inmunoglobulina pueden ser de particulares ventajas ya que pueden tener potencia mejorada u otras propiedades deseadas.

Una "delección" se define aquí como un cambio en cualquier secuencia de aminoácidos o nucleótidos en las que uno o más restos de aminoácidos o nucleótidos, respectivamente, están ausentes en comparación con una secuencia de aminoácidos o secuencia de nucleótidos de un polipéptido o ácido nucleico precursor. En el contexto de una proteína, una delección puede implicar la eliminación de aproximadamente dos, aproximadamente cinco, aproximadamente diez, hasta aproximadamente veinte, hasta aproximadamente treinta o hasta aproximadamente cincuenta o más aminoácidos. Una proteína o un fragmento de la misma puede contener más de una delección.

Una "inserción" o "adición" es el cambio en las secuencias de aminoácidos o nucleótidos que ha dado como resultado la adición de uno o más restos de aminoácidos o nucleótidos, respectivamente, en comparación con una secuencia de aminoácidos o secuencia de nucleótidos de una proteína precursora. "Inserción" se refiere generalmente a la adición de uno o más restos de aminoácidos en una secuencia de aminoácidos de un polipéptido, aunque la "adición" puede ser una inserción o referirse a restos de aminoácidos añadidos en el extremo N o C, o en ambos extremos. En el contexto de una proteína o fragmento de la misma, una inserción o adición es normalmente de aproximadamente uno, aproximadamente tres, aproximadamente cinco, aproximadamente diez, hasta aproximadamente veinte, hasta aproximadamente treinta o hasta aproximadamente cincuenta o más aminoácidos. Una proteína o fragmento de la misma puede contener una o más de una inserción.

Una "sustitución", como se usa en el presente documento, es el resultado de la sustitución de uno o más aminoácidos o nucleótidos por diferentes aminoácidos o nucleótidos, respectivamente, en comparación con una secuencia de aminoácidos o una secuencia de nucleótidos de una proteína precursora o un fragmento de la misma. Se entiende que una proteína o un fragmento de la misma puede tener sustituciones de aminoácidos conservativas que no tienen prácticamente efecto sobre la actividad de la proteína. Por sustituciones conservativas se pretende combinaciones tales como gly, ala; val, ile, leu, met; asp, glu; asn, gln; ser, thr; lys, arg; cys, met; y phe, tyr, trp.

Por medio de ejemplos no limitantes, una sustitución puede, por ejemplo, ser una sustitución conservativa (como se describe en el presente documento) y/o un resto de aminoácido puede sustituirse por otro resto de aminoácido de origen natural en la misma posición en otro dominio V_HH. Por tanto, una cualquiera o más sustituciones, deleciones o inserciones, o cualquier combinación de las mismas, que mejora bien las propiedades del nanocuerpo de la invención, o que al menos no resta demasiado a las propiedades deseadas o del equilibrio o combinación de las propiedades deseadas del nanocuerpo de la invención (es decir, en la extensión que el nanocuerpo no es demasiado adecuado para su uso previsto) se incluyen en el ámbito de la invención. Una persona experta será capaz generalmente de determinar y seleccionar las sustituciones deleciones o inserciones adecuadas, o las combinaciones adecuadas de las mismas, basándose en la divulgación en el presente documento y especialmente después de un grado limitado de experimentación rutinaria, que puede, por ejemplo, implicar introducir un número limitado de sustituciones posibles y determinar su influencia sobre las propiedades de los nanocuerpos obtenidos de esta manera.

De acuerdo con realizaciones particularmente preferidas, las variantes de los dominios variables únicos de la inmunoglobulina, en particular los nanocuerpos de la presente invención pueden tener una sustitución, delección o inserción, de uno, dos o tres aminoácidos en una, dos o tres de las CDR, más específicamente (i) en CDR1 o CDR2 o CDR3; (ii) en CDR1 y CDR2, o, en CDR1 y CDR3, o, en CDR2 y CDR3; (iii) en CDR1 y CDR2 y CDR3. Más preferentemente, las variantes de los dominios variables únicos de la inmunoglobulina, en particular los nanocuerpos, de la presente invención pueden tener una sustitución conservativa (como se ha definido en el presente documento) de uno, dos o tres aminoácidos en una, dos o tres de las CDR, más específicamente (i) en CDR1 o CDR2 o CDR3; (ii) en CDR1 y CDR2, o, en CDR1 y CDR3, o, en CDR2 y CDR3; (iii) en CDR1 y CDR2 y CDR3.

Además, dependiendo del organismo hospedador utilizado para expresar el dominio variable único de inmunoglobulina de la invención, dichas deleciones y/o sustituciones puede diseñarse de tal manera que se eliminan uno o más sitios

de la modificación posterior a la traducción (tales como uno o más sitios de glucosilación), como estará comprendido en la capacidad del experto en la materia. Como alternativa, se pueden diseñar sustituciones o inserciones con el fin de introducir uno o más sitios para la unión de grupos funcionales (como se describe en el presente documento), por ejemplo, para permitir la pegilación específica de sitio.

5 Serán evidentes para la persona experta ejemplos de modificaciones, así como ejemplos de restos de aminoácidos en el dominio variable único de inmunoglobulina, preferentemente la secuencia de nanocuerpos, que se pueden modificar (es decir, bien en la estructura principal de la proteína, pero preferentemente en una cadena lateral), los procedimientos y las técnicas que se pueden usar para introducir dichas modificaciones y los usos y ventajas potenciales de dichas modificaciones. Por ejemplo, Dicha modificación puede implicar la introducción /por ejemplo, mediante enlace covalente o de otra manera adecuada) de uno o más grupos funcionales, residuos o restos en o sobre el dominio variable único de inmunoglobulina de la invención, y en particular de uno o más grupos funcionales, residuos o restos que confieren una o más propiedades o funcionalidades deseadas al dominio variable único de inmunoglobulina de la invención. Los ejemplos de dichos grupos funcionales y de las técnicas para introducirlos serán evidentes para las personas expertas, y pueden generalmente comprender todos los grupos y técnicas funcionales mencionados en los antecedentes generales y citados anteriormente en el presente documento así como los grupos y técnicas funcionales conocidos per se para la modificación de proteínas farmacéuticas, y en particular para la modificación de anticuerpos o fragmentos de anticuerpos (incluyendo los ScFv y los anticuerpos de dominio único), cuya referencia se encuentra, por ejemplo, en Remington's Pharmaceutical Sciences, 16^a ed., Mack Publishing Co., Easton, Pa. (1980). Dichos grupos funcionales pueden, por ejemplo, unirse directamente (por ejemplo, covalentemente) a un dominio variable único de inmunoglobulina de la invención, u opcionalmente mediante un enlazador o separador adecuado, como resultará de nuevo evidente para la persona experta. Una de las técnicas más ampliamente usadas para aumentar la semivida y/o reducir la inmunogenicidad de las proteínas farmacéuticas comprende la unión de un polímero farmacológicamente aceptable adecuado, tal como poli(etilenglicol) (PEG) o derivados del mismo (tales como metoxipoli(etilenglicol) o mPEG). En general, Se puede utilizar cualquier forma adecuada de pegilación, tal como la pegilación usada en la técnica para los anticuerpos y los fragmentos de anticuerpos (incluyendo, aunque no de forma limitativa, anticuerpos de dominio (único) y los ScFv); se hace referencia a, por ejemplo, Chapman, Nat. Biotechnol., 54, 531-545 (2002); por Veronese y Harris, Adv. Drug Deliv. Rev. 54, 453-456 (2003), por Harris y Chess, Nat. Rev. Drug. Discov., 2, (2003) y en el documento WO04060965. Están también disponibles comercialmente diversos reactivos para la pegilación de proteínas, por ejemplo, de Nektar Therapeutics, EE.UU. Preferentemente, se usa la pegilación dirigida a sitio, en particular mediante un resto de cisteína (véase, por ejemplo, Yang y col., Protein Engineering, 16, 10, 761-770 (2003). Por ejemplo, para este fin, PEG se puede unir a un resto de cisteína que se produce naturalmente en un nanocuerpo de la invención, un nanocuerpo de la invención puede modificarse de tal manera que se introduzcan de forma adecuada uno o más restos de cisteína para la unión de PEG, o una secuencia de aminoácidos que comprende uno o más restos de cisteína para la unión de PEG pueden fusionarse al extremo N y/o al extremo C de un nanocuerpo de la invención, utilizando todas las técnicas de diseño de proteínas conocidas per se por la persona experta. Preferentemente, para los dominios variables únicos de la inmunoglobulina y las proteínas de la invención, se usa un PEG con un peso molecular de más de 5000, tal como más de 10.000 y menos de 200.000, tal como menos de 100.000; por ejemplo, en el intervalo de 20.000-80.000. Por otro parte, normalmente, la modificación menos preferida comprende la glucosilación unida a N o unida a O, usualmente como parte de una modificación simultánea a la traducción y/o posterior a la traducción, dependiendo de la célula hospedadora utilizada para expresar el dominio variable único de inmunoglobulina o el polipéptido de la invención. Otra técnica para aumentar la semivida de un dominio variable de la inmunoglobulina puede comprender el diseño en construcciones bifuncionales (por ejemplo, un nanocuerpo contra el MMR diana, y uno contra la proteína sérica tal como la albúmina) o en fusiones de dominios variables únicos de la inmunoglobulina con péptidos (por ejemplo, un péptido contra una proteína sérica tal como albúmina).

Otra modificación más puede comprender la introducción de una más etiquetas detectables u otros grupos o restos generadores de señales, dependiendo del uso previsto del nanocuerpo etiquetado. Las etiquetas y técnicas adecuadas para unirlos, usarlos y detectarlos será evidente para la persona experta y, por ejemplo, incluyen, aunque no de forma limitativa, etiquetas fluorescentes (tales como fluoresceína, isotiocianato, rodamina, ficoeritrina, ficocianina, alofocianina, oftaldehído, y fluorescamina y metales fluorescentes tales como Eu u otros metales de la serie de los lantánidos), etiquetas fosforescentes, etiquetas quimioluminiscentes o etiquetas bioluminiscentes (tales como luminal, isoluminol, éster de acridinio teromático, imidazol, sales de acridinio, éster de oxalato, dioxetano o GFP y sus análogos), radioisótopos, metales, quelatos metálicos o cationes metálicos u otros metales o cationes metálicos que son particularmente adecuado para su uso en el diagnóstico *in vivo*, *in vitro* o en el diagnóstico y la adquisición de imágenes *in situ*, así como cromóforos y enzimas (tal como la malato deshidrogenasa, nucleasa estafilocócica, isomerasa delta-V-esteroide, alcohol deshidrogenasa de levadura, alfa-glicerofosfato deshidrogenasa, triosa fosfato isomerasa, biotinavidina peroxidasa, peroxidasa de rábano picante, fosfatasa alcalina, asparaginasa, glucosa oxidasa, beta-galactosidasa, ribonucleasa, ureasa, catalasa, glucosa-VI-fosfato deshidrogenasa, glucoamilasa y acetilcolina esterasa). Otras etiquetas adecuadas resultarán evidentes para la persona experta y, por ejemplo, incluyen restos que se pueden detectar usando espectroscopía de RMN o espectroscopía de RSE. Dichos nanocuerpos y polipéptidos etiquetados de la invención pueden, por ejemplo, utilizarse para ensayos *in vitro*, *in vivo* o *in situ* (incluyendo inmunoensayos conocidos per se tales como ELISA, RIA, EIA y otros "ensayos de tipo sándwich", etc.) así como fines diagnósticos y de adquisición de imágenes *in vivo*, dependiendo de la elección de la etiqueta específica. Como resultará evidente para la persona experta, otra modificación puede implicar la introducción de un grupo quelante, por

ejemplo, para quelar uno de los metales o cationes metálicos referidos anteriormente. Los grupos quelantes adecuados, por ejemplo, incluyen, sin limitación, ácido dietil-enetriaminapentaacético (DTPA) o ácido etilendiaminotetraacético (EDTA). Otra modificación más puede comprender la introducción de un grupo funcional que es una parte de una pareja de unión específica, tal como la pareja de unión biotina-(estrept)avidina. Dicho grupo funcional puede utilizarse para unir el nanocuerpo de la invención a otra proteína, polipéptido o compuesto químico que se una a la otra mitad de la pareja de unión, es decir, mediante la formación de la pareja de unión. Por ejemplo, un nanocuerpo de la invención puede conjugarse a biotina, y unirse a otra proteína, polipéptido, compuesto o transportador conjugado a avidina o estreptavidina. Por ejemplo, Dicho nanocuerpo conjugado puede usarse como un indicador, por ejemplo, en un sistema diagnóstico donde un agente productor de una señal detectable se conjuga a avidina o estreptavidina. Dichas parejas de unión pueden, por ejemplo, utilizarse también para unir el nanocuerpo de la invención a un transportador, incluyendo los transportadores adecuados para fines farmacéuticos. Un ejemplo no limitante son las formulaciones liposómicas descritas por Cao y Suresh, *Journal of Drug Targeting*, 8, 4, 257 (2000). Dichas parejas de unión pueden utilizarse también para unir un agente terapéuticamente activo al nanocuerpo de la invención.

De acuerdo con una realización preferida, el dominio variable único de inmunoglobulina de la presente invención se fusiona a una etiqueta detectable, tanto directamente como a través de un enlazador. ya sea directamente o a través de un enlazador. Preferentemente, la etiqueta detectable es un radioisótopo o un trazador radioactivo, que es adecuado para aplicaciones médicas, tales como adquisición de imágenes nucleares *in vivo*. Los ejemplos incluyen, sin el fin de ser limitativos, ^{99m}Tc , ^{123}I , ^{125}I , ^{111}In , ^{18}F , ^{64}Cu , ^{67}Ga , ^{68}Ga , y cualquier otro radioisótopo que se pueda usar en animales, en concreto ratones y seres humanos.

En otra realización más, el dominio variable único de inmunoglobulina de la presente invención se fusiona a un resto seleccionado entre el grupo que consiste en una toxina, o un fármaco citotóxico, o a una enzima capaz de convertir un profármaco en un fármaco citotóxico, o a un radionucleido, o acoplarse a una célula citotóxica, tanto directamente como a través de un enlazador. ya sea directamente o a través de un enlazador.

Como se usa en el presente documento, los "enlazadores" son péptidos de 1 a 50 aminoácidos de longitud y se seleccionan o diseñan normalmente para ser no estructurados y flexibles. Estos incluyen, aunque no de forma limitativa, péptidos sintéticos ricos en Gly, Ser, Thr, Gln, Glu u otros aminoácidos que se asocian frecuentemente con regiones no estructuradas en proteínas naturales. (Véase, por ejemplo, Dosztanyi Z., V. Csizmek, P. Tompa, e I. Simon (2005). IUPred: servidor web para la predicción de regiones no estructuradas intrínsecamente de proteínas basadas en un contenido de energía estimado. *Bioinformatics* (Oxford, Inglaterra), 21(16), 3433-4.) Los ejemplos no limitantes de secuencias enlazadoras adecuadas se describen en la sección de Ejemplos e incluyen $(\text{G}_4\text{S})_3$ (GGGGSGGGSGGGGS; SEQ ID NO:110), bisagra de IgG2 de llama (AHHSEDPSSKAPKAPMA; SEQ ID NO: 109, véanse también, SEQ ID NO:113) o los enlazadores de la bisagra de IgA de llama (SPSTPPTSPSTPPAS SEQ ID NO:147).

En otras realizaciones, la unidad de direccionamiento es una inmunoglobulina o fragmento de la misma. Los ejemplos incluyen, aunque no de forma limitativa, aptámeros e inmunoglobulinas. Las inmunoglobulinas (anticuerpos) son proteínas generadas por el sistema inmunitario para proporcionar una molécula específica capaz de complejarse con una molécula invasora comúnmente denominada como un antígeno. Los anticuerpos naturales tienen dos sitios de unión antígeno idénticos, ambos de los cuales son específicos para un antígeno concreto. la molécula de antígeno reconoce el antígeno complejándose con sus sitios de unión a antígeno con zonas del antígeno denominadas epítomos. Los epítomos se ajustan en la arquitectura conformacional de los sitios de unión a antígeno del anticuerpo, permitiendo al anticuerpo unirse al antígeno.

La molécula de inmunoglobulina está compuesta por dos cadenas polipeptídicas pesadas idénticas y dos cadenas polipeptídicas ligeras idénticas, manteniéndose juntas por los enlaces disulfuro intercadena. Cada cadena pesada y ligera individuales se pliega en regiones de aproximadamente 110 aminoácidos, asumiendo una conformación tridimensional conservada. La cadena ligera comprende una región variable (denominada V_L) y una región constante (C_L), mientras que la cadena pesada comprende una región variable (V_H) y tres regiones constantes (C_H1 , C_H2 y C_H3). Las parejas de regiones se asocian para formar estructuras discretas. En particular, las regiones variables de la cadena ligera y pesada, V_L y V_H , se asocian para formar una zona "Fv" que contiene el sitio de unión a antígeno.

Las regiones variables de las cadenas pesada y ligera muestran una variabilidad considerable en la estructura y composición de aminoácidos de una molécula de anticuerpo a otra, mientras que las regiones constantes muestran poca variabilidad. Cada anticuerpo reconoce y se une a un antígeno a través del sitio de unión definido por la asociación de la cadena pesada y ligera, las regiones variables en una zona F_V . La región variable de cadena ligera V_L y la región variable de cadena pesada V_H de una molécula de anticuerpo concreta tiene secuencias de aminoácidos específicas que permiten al sitio de unión a antígeno asumir una conformación que se une el epítipo antigénico reconocido por este anticuerpo concreto.

Dentro de las regiones variables se encuentran regiones en las que la secuencia de aminoácidos es extremadamente variable de un anticuerpo a otro. Tres de estas regiones "hipervariables" así denominadas o "regiones determinantes de la complementariedad" (CDR) se encuentra en cada una de las cadenas ligera y pesada. Las tres CDR de una cadena ligera y las tres CDR de una cadena pesada correspondiente forman el sitio de unión a antígeno.

La escisión de las moléculas de anticuerpos de origen natural con la enzima proteolítica papaína genera fragmentos que retienen su sitio de unión a antígeno. Estos fragmentos, conocidos comúnmente como Fab (para fragmento, sitio de unión a antígeno) están compuestos de las regiones C_L, V_L, C_{H1} y V_H del anticuerpo. En el Fab, la cadena ligera y el fragmento de la cadena pesada están unidos covalentemente mediante un enlace disulfuro.

5 Se producen anticuerpos monoclonales contra antígenos diana (por ejemplo, una proteína de la superficie celular, tal como receptores) mediante una variedad de técnicas que incluyen las metodologías de anticuerpo monoclonal convencionales tales como las técnicas de hibridación de células somáticas de Kohler y Milstein, *Nature*, 256:495 (1975). Aunque en algunas aspectos, se prefieren los procedimientos de hibridación de células somáticas, también se contemplan otras técnicas para la producción de anticuerpos monoclonales (por ejemplo, transformación vírica u oncológica de linfocitos B).

El sistema animal preferido para preparar los hibridomas es el sistema murino. La producción de hibridomas en el ratón es un procedimiento bien establecido. Los protocolos de inmunización y las técnicas para el aislamiento de los esplenocitos inmunizados para la fusión se conocen en la técnica. Las parejas de fusión (por ejemplo, células de mieloma murino) y los procedimientos de fusión también son conocidos.

15 los anticuerpos monoclonales humanos (mAbs) dirigidos contra proteínas humanas se pueden generar utilizando ratones transgénicos que lleven el sistema inmunitario humano completo más que el sistema del ratón. Los esplenocitos de los ratones transgénicos se inmunizan con el antígeno de interés, que se utilizó para producir los hibridomas que secretan mAbs humanos con afinidades específicas por los epítomos de una proteína humana. (Véase por ejemplo., Wood y col., documento WO 91/00906, Kucherlapati y col., documento WO 91/10741; Lonberg y col., documento WO 92/03918; Kay y col., documento WO 92/03917; N. Lonberg y col., *Nature*, 368:856-859 [1994]; L.L. Green y col., *Nature Genet.*, 7:13-21 [1994]; S.L. Morrison y col., *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 81:6851-6855 [1994]; Bruggeman y col., *Immunol.*, 7:33-40 [1993]; Tuailon y col., *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 90:3720-3724 [1993]; y Bruggeman y col. *Eur. J. Immunol.*, 21:1323-1326 [1991]).

25 También se pueden generar anticuerpos monoclonales mediante otros procedimientos conocidos por los expertos en la técnica de la tecnología del ADN recombinante. se ha desarrollado un procedimiento alternativo, denominado como el procedimiento de la "expresión combinatoria del anticuerpo", para identificar y aislar fragmentos de anticuerpos que tienen una especificidad antigénica concreta, y se puede utilizar para producir anticuerpos monoclonales. (véase, por ejemplo, Sastry y col., *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 86:5728 [1989]; Huse y col., *Science*, 246:1275 [1989]; y Orlandi y col., *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 86:3833 [1989]). Después de la inmunización de un animal con el inmunógeno como se ha descrito anteriormente, el repertorio de anticuerpos del agrupamiento de linfocitos B resultante se clona. Se conocen en general procedimientos para la obtención de la secuencia de ADN de las regiones variables de una población diversa de moléculas de inmunoglobulina utilizando una mezcla de cebadores oligoméricos y la PCR. Por ejemplo, se mezclan cebadores oligonucleotídicos que se correspondan con las secuencias líder en 5' (péptido de señalización) y/o las secuencias de la región marco conservada 1 (FR1), así como se pueden utilizar cebadores de una región conservada en 3' para la amplificación de la PCR de las regiones variables de cadena pesada y ligera de varios anticuerpos de murino (véase, por ejemplo, Larrick y col., *Biotechniques*, 11:152-156 [1991]). También se ha utilizado una estrategia similar para amplificar regiones variables de cadena pesada y ligera humanas a partir de anticuerpos humanos (véase por ejemplo, Larrick y col., *Methods: Companion to Methods in Enzymology*, 2:106-110 [1991]).

40 En una realización, Se aisló ARN de linfocitos B, por ejemplo, células de sangre periférica, médula ósea, o preparaciones de bazo, usando protocolos convencionales (por ejemplo, documento US 4.683.292; Orlandi, y col., *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 86:3833-3837 [1989]; Sastry y col., *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 86:5728-5732 [1989]; y Huse y col., *Science*, 246:1275 [1989]). La primera hebra de ADNc se sintetizó usando cebadores específicos para la región constante de las cadenas pesadas y cada una de las cadenas ligeras κ y λ , así como los cebadores de la secuencia de señalización. Usando cebadores de la PCR de la región variable, se amplificaron las regiones variables de las cadenas pesada y ligera, cada una sola o en combinación, y se ligaron en vectores adecuados para la manipulación adicional diseñando los paquetes de expresión. Los cebadores de oligonucleótidos útiles en los protocolos de amplificación pueden ser únicos o degenerados o incorporar inosina en las posiciones degeneradas. Se pueden incorporar también secuencias de reconocimiento de la endonucleasa de restricción en los cebadores para permitir la clonación del fragmento amplificado en un vector en un marco de lectura predeterminado para la expresión.

La biblioteca de genes V clonada a partir del repertorio derivado de la inmunización se puede expresar mediante una población de paquetes de expresión, derivados preferentemente de fagos filamentosos, para formar una biblioteca de expresión de anticuerpos. Idealmente, el paquete de expresión comprende un sistema que permite el muestreo de bibliotecas de expresión de anticuerpos variegadas muy grandes, una rápida clasificación tras cada ciclo de separación por afinidad y un fácil aislamiento del gen del anticuerpo a partir de los paquetes de expresión purificados. Además de kits disponibles comercialmente para generar bibliotecas de expresión de fagos, se pueden encontrar ejemplos de procedimientos y reactivos particularmente adecuados para su uso en la generación de una biblioteca de expresión de anticuerpos en, por ejemplo, por ejemplo el documento US 5.223.409; documento WO 92/18619; documento WO 91/17271; documento WO 92/20791; documento WO 92/15679; documento WO 93/01288; documento WO 92/01047; documento WO 92/09690; documento WO 90/02809; Fuchs y col., *Biol. Technology*, 9:1370-1372 [1991]; Hay y col., *Hum. Antibod. Hybridomas*, 3:81-85 [1992]; Huse y col., *Science*, 246:1275-1281 [1989]; Hawkins y col., *J. Mol. Biol.*,

226:889-896 [1992]; Clackson y col., *Nature*, 352:624-628 [1991]; Gram y col., *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 89:3576-3580 [1992]; Garrad y col., *Bio/Technolog*, 2:1373-1377 [1991]; Hoogenboom y col., *Nuc. Acid Res.*, 19:4133-4137 [1991]; y Barbas y col., *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 88:7978 [1991]. En determinadas realizaciones, los dominios de la región V de las cadenas pesada y ligera se pueden expresar en el mismo polipéptido, unidos mediante un enlazador flexible para formar un fragmento Fv monocatenario, y el gen scFv se clonó posteriormente en el vector de expresión deseado o el genoma del fago.

Como se describe generalmente en McCafferty y col., *Nature*, 348:552-554 (1990), dominios V_H y V_L completos de un anticuerpo, unidos mediante un enlazador flexible (por ejemplo, (Gly₄-Ser)₃) se pueden usar para producir un anticuerpo monocatenario que se puede convertir en un paquete de expresión separable basándose en la afinidad del antígeno. Se pueden formular posteriormente anticuerpos scFv aislados inmunorreactivos con el antígeno en una preparación farmacéutica para su uso en el procedimiento sujeto. CL10scFv, que se une a FOLR2 (véase, por ejemplo, SEQ ID NO: 120 y 121 y secuencias que tienen al menos 80 %, 90 %, 95 %, 99 % y 100 % de identidad con las anteriores; la publicación de patente de EE.UU. 20140010756) es un ejemplo no limitante de un scFv útil como una unidad de direccionamiento en la presente invención.

Una vez desplegado sobre la superficie de un paquete de expresión (por ejemplo, un fago filamentoso), la biblioteca de anticuerpos se cribó con el antígeno diana, o un fragmento peptídico del mismo, para identificar y aislar paquetes que expresan un anticuerpo que tiene especificidad por el antígeno diana. Los ácidos nucleicos que codifican el anticuerpo seleccionado se pueden recuperar del paquete de expresión (por ejemplo, del genoma del fago) y subclonarse en otros vectores de expresión mediante técnicas de ADN recombinante convencionales.

Las moléculas de anticuerpos específicas con afinidades altas por una proteína de la superficie se pueden preparar de acuerdo con los procedimientos conocidos por los expertos en la materia, por ejemplo, los procedimientos que implican el cribado de bibliotecas en los documentos US 5.233.409 y US 5.403.484. Además, se pueden usar los procedimientos de estas bibliotecas en cribados para obtener determinantes de la unión que sean miméticos de los determinantes estructurales de anticuerpos.

En particular, la superficie de unión a Fv de una molécula de anticuerpo concreta interactúa con su ligando diana de acuerdo con los principios de interacciones proteína-proteína, por tanto, los datos de la secuencia para V_H y V_L (la última de las cuales puede ser del tipo de cadena κ o λ) son la base de las técnicas de diseño de proteínas conocidas por los expertos en la materia. Se pueden obtener detalles de la superficie de la proteína que comprenden los determinantes de la unión de la secuencia de anticuerpos en formación, mediante un procedimiento de modelización usando estructuras tridimensionales previamente determinadas a partir de otros anticuerpos obtenidos de estudios de RMN o datos cristalográficos.

En una realización, se expresó una biblioteca de péptidos variegados mediante una población de paquetes de expresión para formar una biblioteca de expresión de péptidos. Idealmente, el paquete de expresión comprende un sistema que permite el muestreo de bibliotecas de expresión de péptidos variegadas muy grandes, una rápida clasificación tras cada ciclo de separación por afinidad, y un aislamiento fácil del gen que codifica el péptido de los paquetes de expresión purificados. Las bibliotecas de expresión de péptidos pueden ser, por ejemplo, organismos procariotas y virus, que se pueden amplificar rápidamente, son relativamente fáciles de manipular, y que permiten la creación de un número grande de clones. Los paquetes de expresión preferidos incluyen, por ejemplo, células bacterianas vegetativas, esporas bacterianas, y lo más preferentemente, virus bacterianos (especialmente virus de ADN). Sin embargo, la presente invención contempla también el uso de células eucariotas, incluyendo levaduras y sus esporas, como potenciales paquetes de expresión. Se conocen en la técnica bibliotecas de expresión de fagos. Bibliotecas de expresión en fago son conocidas en la materia.

Otras técnicas incluyen cromatografía por afinidad con un "receptor" adecuado, por ejemplo, un antígeno diana, seguido por la identificación de los agentes o ligandos de unión aislados mediante técnicas convencionales (por ejemplo, espectrometría de masas y RMN). Preferentemente, el receptor soluble se conjuga a una etiqueta (por ejemplo, fluoróforos, enzimas colorimétricas, radioisótopos, o compuestos luminiscentes) que se pueden detectar para indicar la unión al ligando. Como alternativa, los compuestos inmovilizados se pueden liberar selectivamente y permitirse difundir a través de una membrana para interactuar con un receptor.

Se pueden sintetizar también bibliotecas combinatorias de compuestos con "etiquetas" para codificar la identidad de cada miembro de la biblioteca. (Véase por ejemplo., W.C. Still y col., documento WO 94/08051). En general, este procedimiento caracteriza el uso de etiquetas inertes, pero fácilmente detectables que se unen al soporte sólido o a los compuestos. Cuando se detecta un compuesto activo, se determina la identidad del compuesto mediante la identificación de la etiqueta acompañante única. Este procedimiento de etiquetado permite la síntesis de grandes bibliotecas de compuestos que se pueden identificar a niveles muy bajos entre el conjunto total de todos los compuestos en la biblioteca.

se pretende también que la expresión anticuerpo modificado incluya anticuerpos, tales como anticuerpos monoclonales, anticuerpos quiméricos, y anticuerpos humanizados que se han modificado mediante, por ejemplo, eliminando, añadiendo, o sustituyendo porciones del anticuerpo. Por ejemplo, un anticuerpo se puede modificar eliminando la región bisagra, generando por tanto un anticuerpo monovalente. Cualquier modificación está dentro del

ámbito de la invención siempre que el anticuerpo tenga al menos una región específica de unión a antígeno.

Los anticuerpos monoclonales de ratón-ser humano quiméricos pueden producirse mediante técnicas de ADN recombinante conocidas en la materia. Por ejemplo, un gen que codifica la región Fc constante de una molécula de anticuerpo monoclonal de murino (o de otra especie) se digiere con enzimas de restricción para eliminar la región que codifica la región Fc de murino, y se sustituye por la parte equivalente de un gen que codifica una región Fc constante humana. (Véase por ejemplo., Robinson y col., PCT/US86/02269; Solicitud de Patente Europea 184.187; Solicitud de Patente Europea 171.496; Solicitud de Patente Europea 173.494; documento WO 86/01533; por ejemplo el documento US 4.816.567; Solicitud de Patente Europea 125.023; Better y col., Science, 240:1041-1043 [1988]; Liu y col., Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 84:3439-3443 [1987]; Liu y col., J. Immunol., 139:3521-3526 [1987]; Sun y col., Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 84:214-218 [1987]; Nishimura y col., Canc. Res., 47:999-1005 [1987]; Wood y col., Nature, 314:446-449 [1985]; y Shaw y col., J. Natl. Cancer Inst., 80:1553-1559 [1988]).

El anticuerpo quimérico se puede humanizar adicionalmente sustituyendo secuencias de la región Fv variable que no estén directamente implicadas en la unión al antígeno con secuencias equivalentes de las regiones Fv variables humanas. Se proporcionan revisiones generales de anticuerpos quiméricos humanizados por S.L. Morrison, Science, 229:1202-1207 (1985) y por Oi y col., Bio. Techniques, 4:214 (1986). Los procedimientos incluyen el aislamiento, la manipulación, y la expresión de las secuencias de ácidos nucleicos que codifican todas o parte de las regiones Fv variables de la inmunoglobulina a partir al menos de una cadena pesada o ligera. Las fuentes de dichos ácidos nucleicos son bien conocidas por los expertos en la materia y, por ejemplo, pueden obtenerse de 7E3, un hibridoma productor de un anticuerpo dirigido contra GPIIb/IIIa. El ADN recombinante que codifica el anticuerpo quimérico, o fragmentos del mismo, se puede clonar a continuación en un vector de expresión adecuado.

Los anticuerpos humanizados adecuados se pueden producir de manera alternativa mediante sustitución de una CDR (por ejemplo, por ejemplo el documento US 5.225.539; Jones y col., Nature, 321:552-525 [1986]; Verhoeven y col., Science, 239:1534 [1988]; y Beidler y col., J. Immunol., 141:4053 [1988]). Se pueden reemplazar todas las CDR de un anticuerpo humano en particular con al menos una parte de una CDR no humana o se pueden reemplazar solo algunas de las CDR con CDR no humanas. Solamente es necesario sustituir el número de CDR requeridas para la unión del anticuerpo humanizado al receptor Fc.

Un anticuerpo se puede humanizar mediante cualquier procedimiento que sea capaz de sustituir al menos una parte de una CDR de un anticuerpo humano con una CDR derivada de un anticuerpo no humano. Las CDR humanas se pueden sustituir con CDR no humanas; usando la mutagénesis dirigida a sitio de oligonucleótidos.

También, comprendidos en el ámbito de la invención están los anticuerpos quiméricos y humanizados en los que se han sustituido, eliminado o añadido aminoácidos específicos. En particular, los anticuerpos humanizados preferidos tienen sustituciones de aminoácidos en la región marco, tales como para mejorar la unión al antígeno. Por ejemplo, En un anticuerpo humanizado que tenga unas CDR de ratón, los aminoácidos localizados en la región marco conservada humana se pueden sustituir con los aminoácidos localizados en las posiciones correspondientes del anticuerpo de ratón. Se sabe que dichas sustituciones mejoran la unión de los anticuerpos humanizados al antígeno en algunos casos.

En algunas realizaciones, el anticuerpo monoclonal es un anticuerpo de murino o un fragmento del mismo. En otras realizaciones preferidas, el anticuerpo monoclonal es un anticuerpo de bovino o un fragmento del mismo. Por ejemplo, el anticuerpo de murino se puede producir mediante un hibridoma que incluye un linfocito B obtenido de un ratón transgénico que tiene un genoma que comprende un transgén de una cadena pesada y un transgén de una cadena ligera fusionados a una célula inmortalizada. Los anticuerpos pueden ser de diversos isotipos, incluyendo, aunque no de forma limitativa: IgG (por ejemplo, IgG1, IgG2, IgG2a, IgG2b, IgG2c, IgG3, IgG4); IgM; IgA1; IgA2; IgA_{sec}; IgD; e IgE. En algunas realizaciones preferidas, el anticuerpo es un isotipo IgG. En otras realizaciones preferidas, el anticuerpo es un isotipo IgM. Los anticuerpos pueden ser de longitud completa (por ejemplo, un anticuerpo IgG1, IgG2, IgG3, o IgG4) o pueden incluir solo una porción de unión a antígeno (por ejemplo, un Fab, F(ab')₂, Fv o un fragmento Fv monocaténario).

En realizaciones preferidas, la inmunoglobulina es un anticuerpo recombinante (por ejemplo, un anticuerpo quimérico o humanizado), una subunidad, o un fragmento de unión a antígeno de la misma (por ejemplo, tiene una región variable, o al menos una región determinante de la complementariedad (CDR)).

En algunas realizaciones, la inmunoglobulina es monovalente (incluye, por ejemplo, una pareja de cadenas pesada y ligera, o porciones de unión a antígeno de las mismas). En otras realizaciones, la inmunoglobulina es divalente (incluye, por ejemplo, dos parejas de cadenas pesada y ligera o porciones de unión a antígeno de las mismas).

En algunos aspectos, un sistema de preparación de anticuerpos de tipo hibridoma, desarrollado por Neoclone (Madison, WI), se usa en la producción de anticuerpos monoclonales. Los esplenocitos procedentes de ratones inmunizados se immortalizan usando una introducción mediada por retrovector de los genes abl-myc. En la reintroducción en ratones receptores, un clon de linfocitos B inmortalizado dominante (plasmacitoma) crece más que los demás y produce un anticuerpo monoclonal en el fluido ascítico. El clon de linfocitos B se puede recoger con el fluido ascítico que contiene una alta concentración de anticuerpos monoclonales. este procedimiento se puede

completar en 8-10 semanas.

Se entenderá que las CDR o los dominios variables de los nanocuerpos novedosos y/o los anticuerpos de dominio único descritos anteriormente pueden identificarse (véase la Tabla 1) y clonarse y a continuación insertarse en una región variable o región marco deseada para proporcionar, por ejemplo, un anticuerpo humanizado, Fab, F(ab')₂, anticuerpo Fab' monocatenario, Fv, (ScFv) monocatenario, anticuerpo monoespecífico, anticuerpo biespecífico, anticuerpo trispecífico, anticuerpo multivalente, anticuerpo quimérico, anticuerpo humanizado, anticuerpo humano, anticuerpo injertado a la CDR, microcuerpo, intracuerpo (por ejemplo, anticuerpo intracelular), y/o anticuerpo defucosilado y/o un derivado de los mismos. Se pueden clonar las secuencias de la CDR1, CDR2, y CDR3, por ejemplo, uno cualquiera de los nanocuerpos codificados por las siguientes secuencias de aminoácidos: SEQ ID NOS: 30-56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, y 112 que se unen a CD206 y a la SEQ ID NO: 122, que se une a FOLR2; o las siguientes secuencias de ácidos nucleicos: Las SEQ ID NOS: 3, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107 y 111, que codifican los nanocuerpos que se unen a CD206 y la SEQ ID NO:123 que codifica un anticuerpo de dominio único que se une a FOLR2.

se entenderá que se puede identificar la proteína de unión a antígeno con referencia a la secuencia de nucleótidos y/o aminoácidos que corresponde a las regiones variables y/o las regiones determinantes de la complementariedad ("CDR") de los mismos. Por ejemplo, una proteína de unión a antígeno ilustrativa que se deriva de, o está relacionada con los nanocuerpos descritos anteriormente puede comprender una cadena pesada y/o ligera que comprende cada una o más regiones constantes y/o variables. Las regiones variables comprenden normalmente una o más CDR que en gran parte determinan la especificidad de unión del anticuerpo. Estas proteínas de unión a antígeno pueden identificarse mediante el análisis de las secuencias de nucleótidos que codifican las regiones variables. Estas proteínas de unión a antígeno pueden también identificarse mediante el análisis de las secuencias de aminoácidos de (por ejemplo, que se pueden codificar por las secuencias de nucleótidos) las regiones variables.

Cualquiera de las regiones variables de las CDR de los nanocuerpos descritos anteriormente (o las variantes de los mismos que comparten al menos un 80 % de identidad) pueden combinarse con cualquier otra región variable y/o CDR en cualquier orden y/o combinación para formar híbridos y/o agentes de unión de fusión y/o insertarse en otras regiones variables de cadena pesada y/o ligera usando técnicas convencionales. Estas se pueden usar junto con cualesquiera regiones constantes.

Las CDR (regiones determinante de la complementariedad) son secuencias de aminoácidos procedentes de anticuerpos que son, al menos en parte, responsables de la unión de un anticuerpo a una diana específica. Los expertos en la materia entienden que las CDR se pueden identificar usando cualquiera de las diversas técnicas y/o esquemas. Se pueden identificar las CDR de los nanocuerpos que se muestran en el presente documento usando cualquiera de estas técnicas. Por ejemplo, se pueden identificar las CDR de los nanocuerpos como se ha descrito. Los nanocuerpos tienen tres regiones CDR, cada uno no contiguo con los otros (denominados CDR1, CDR2, CDR3). La delineación de las secuencias FR y CDR se basa a menudo en el sistema de numeración única IMGT para los dominios V y los dominios de tipo V. (Véase, por ejemplo, Lefranc M. P., C. Pommie, y col. (2003). "IMGT unique numbering for immunoglobulin and T cell receptor variable domains and Ig superfamily V-like domains". *Developmental and Comparative Immunology* 27(1): 55-77.) Como alternativa, la delineación de las secuencias FR y CDR se puede llevar a cabo usando el sistema de numeración de Kabat como se aplica a los dominios V_H de camélidos en el artículo de Riechmann y Muyldermans. (Véase, por ejemplo, Riechmann y Muyldermans J. *Immunol. Methods* 2000; 240: 185-195.) Como conocerá el experto en la materia, los nanocuerpos pueden caracterizarse en particular por la presencia de uno u más restos de Camelidae distintivos en una o más de las secuencias marco (de acuerdo con la numeración de Kabat), como se describe, por ejemplo, en el documento WO 08/020.079, en la página 75, Tabla A-3,).

Un resumen de varios esquemas, en parte basados en, por ejemplo, Kabat y col., "Sequences of Proteins of Immunological Interest", 5ª Ed., Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, publicación NIH N.º 91-3242 (1991), y Al-Lazikani y col., "Standard conformations for the canonical structures of immunoglobulins", *J. Mol. Biol.* 273:927-948, 1997, se proporciona en la Tabla 2 siguiente:

Tabla 2

Bucle CDR*	Kabat	AbM	Chothia	Contacto
L1	L24--L34	L24--L34	L24--L34	L30--L36
L2	L50--L56	L50--L56	L50--L56	L46--L55
L3	L89--L97	L89--L97	L89--L97	L89--L96

(continuación)

Bucle CDR*	Kabat	AbM	Chothia	Contacto
H1	H31--H35B (Numeración de Kabat)	H26--H35B	H26--H32..34	H3 0--H35B
H1	H31--H35 (Numeración de Chotia)	H26--H35	H26--H32	H30--H35
H2	H50--H65	H50--H58	H52--H56	H47--H58
H3	H95--H102	H95--H102	H95--H102	H93--H101
*L = cadena ligera; H = cadena pesada				

Se pueden identificar también las CDR siguiendo un conjunto de reglas tales como aquellas que se muestran en la Tabla 3 siguiente (como se describe en <http://www.bioinf.org.uk/abs/#cdrid>):

Tabla 3

CDR* / Rasgo	Característica típica del rasgo**
CDR-L1	
Inicio	aproximadamente 24 restos
Restos anteriores	normalmente Cys
Restos posteriores	normalmente Trp (por ejemplo, Trp-Tyr-Gln, Trp-Leu-Gln, Trp-Phe-Gln, Trp-Tyr-Leu)
Longitud	10 a 17 restos
CDR-L2	
Inicio	normalmente 16 restos después del extremo de L1
Restos anteriores	normalmente Ile-Tyr, Val-Tyr, Ile-Lys o Ile-Phe
Longitud	normalmente siete (7) restos
CDR-L3	
Inicio	normalmente 33 restos después del extremo de L2
Restos anteriores	normalmente Cys
Longitud	normalmente Phe-Gly-X-Gly
Restos posteriores	7 a 11 restos
CDR-H1	
Inicio	Aproximadamente 26 restos (normalmente cuatro (4) restos después de Cys) (Chothia/ definición ABM); la definición de Kabat se inicia 5 restos después
Restos anteriores	normalmente Cys-X-X-X
Restos posteriores	normalmente Trp (por ejemplo, Trp-Val, Trp-Ile, Trp-Ala)
Longitud	10 a 12 restos (definición de AbM); la definición de Chothia excluye los últimos cuatro (4) restos
CDR-H2	
Inicio	normalmente 15 restos después del extremo de la definición de Kabat / AbM de CDR-H1
Restos anteriores	normalmente Leu-Glu-Trp-Ile-Gly
Restos posteriores	normalmente Lys/Arg-Leu/Ile/Val/Phe/Thr/Ala-Thr/Ser/Ile/Ala
Longitud	definición de Kabat 16 a 19 restos; definición de AbM (y Chothia reciente) 9 a 12 restos
CDR-H3	
Inicio	normalmente 33 restos después del extremo de CDR-H2 (normalmente dos (2) restos después de Cys)

(continuación)

CDR* / Rasgo	Característica típica del rasgo**
Restos anteriores	normalmente Cys-X-X (normalmente Cys-Ala-Arg)
Restos posteriores	normalmente Trp-Gly-X-Gly
Longitud	normalmente de 3 a 25 restos
*L = cadena ligera; H = cadena pesada; ** X = Cualquier aminoácido	

Estos sistemas para identificar las CDR son meramente ilustrativos y pueden ser adecuados otros, como entenderá una persona normalmente experta en la técnica. Las CDR identificadas de esta manera se pueden usar para identificar proteínas de unión a antígeno adecuadas. Estos sistemas pueden usarse para identificar la región CDR de una proteína de unión a antígeno de tal manera que las CDR de la presente invención se pueden usar para sustituir las CDR existentes en la proteína de unión a antígeno o insertarse en un marco o región variable adecuada de la proteína de unión a antígeno. Dichas CDR se pueden combinar también entre sí en cualquier orden y/o combinación para formar agentes híbridos y/o agentes de unión de fusión y/o insertarse en las otras regiones variables de la cadena pesada y/o ligera usando técnicas convencionales. Las secuencias de aminoácidos de los nanocuerpos, y/o uno cualquiera o más fragmentos y/o derivados de los mismos, pueden codificarse mediante cualquiera de varias secuencias de ácidos nucleicos. Se pueden usar también estas secuencias de ácidos nucleicos para identificar y/o preparar (por ejemplo, como moléculas de ácidos nucleicos) proteínas de unión a antígeno adecuadas. Por ejemplo, una persona normalmente experta en la técnica puede diseñar secuencias de nucleótidos que codifican cualesquiera de dichas secuencias de aminoácidos. Cualquiera de las secuencias y/o fragmentos de nucleótidos y/o derivados de los mismos, pueden combinarse entre sí en cualquier orden y/o combinación para codificar agentes híbridos y/o agentes de unión de fusión y/o insertarse en las otras secuencias de ácidos nucleicos que codifican las regiones variables ligera y/o pesada (y/o fragmentos y/o derivados de las mismas).

Las secuencias de las regiones variables descritas en el presente documento (que pueden comprender fragmentos y/o derivados de las mismas), incluyendo, aunque no de forma limitativa a las regiones variables de los nanocuerpos descritas anteriormente (y/o los fragmentos y/o derivados de las mismas) y/o sus correspondientes secuencias de nucleótidos (y/o los fragmentos y derivados de las mismas) se pueden usar en combinación con una o más secuencias de aminoácidos y/o secuencias de nucleótidos que codifican una o más cadenas constantes (y/o un fragmento y/o derivados del mismo) de una molécula de anticuerpo. Por ejemplo, las secuencias de aminoácidos de la región variable de los nanocuerpos se pueden unir a las regiones constantes de cualquier molécula de anticuerpo de la misma o diferentes especies (por ejemplo, ser humano, cabra, rata, oveja, pollo) o de entre las cuales se derivó la región variable de la secuencia de aminoácidos. Los las mismas regiones constantes se pueden derivar de cualquiera de, por ejemplo, ser humano (por ejemplo, IgG (IgG1, IgG2, IgG3, IgG4), IgM, IgA (IgA1 e IgA2), IgD e IgE), can (por ejemplo, IgG (IgGA, IgGB, IgGC, IgGD) IgA, IgD, IgE e IgM), pollo (por ejemplo, IgA, IgD, IgE, IgG, IgM, IgY), cabra (por ejemplo, IgG), ratón (por ejemplo, IgA, IgG, IgD, IgE, IgM), cerdo (por ejemplo, IgA, IgG, IgD, IgE, IgM), rata (por ejemplo, IgA, IgG, IgD, IgE, IgM), felino (por ejemplo, IgA, IgD, IgE, IgG, IgM) y/o un fragmento y/o derivado de los mismos (por ejemplo, como anticuerpos quiméricos). Por consiguiente, se pueden usar las CDR o regiones variables de los nanocuerpos para producir un anticuerpo humanizado, Fab, F(ab')₂, anticuerpo Fab' monocatenario, Fv, (ScFv) monocatenario, anticuerpo monoespecífico, anticuerpo biespecífico, anticuerpo triespecífico, anticuerpo multivalente, anticuerpo quimérico, anticuerpo humanizado, anticuerpo humano, anticuerpo injertado a la CDR, microcuerpo, intracuerpo (por ejemplo, anticuerpo intracelular), y/o anticuerpo defucosilado y/o un derivado de los mismos, como se sabe en la técnica.

2. Agentes inmunoestimuladores

La proteína de fusión de la presente invención puede incluir una variedad de diferentes agentes inmunoestimuladores. En algunos aspectos de la divulgación, el agente inmunoestimulador en una proteína de fusión de la presente divulgación se selecciona entre una interleuquina, un interferón y un factor de necrosis tumoral.

La presente divulgación no se limita al uso de cualesquiera interleuquinas concretas en las proteínas de fusión. En algunos aspectos, las interleuquinas se seleccionan entre IL-1 β , IL-2 (SEQ NO:22 y 118 (secuencia de na humana), SEQ ID NO:23 y 119 (secuencia de aa humana)), IL-7 (SEQ NO:131 (secuencia de na humana), SEQ ID NO:132 (secuencia de aa humana)), IL-8, IL-12, IL-15 (SEQ ID NO:7, 8, 116 (secuencias de na humanas), SEQ ID NO:9 y 117 (secuencia de aa humana)), IL-17 (SEQ NO:18 y 136 (secuencia de na humana), SEQ ID NO:19 y 137 (secuencia de aa humana)), IL-18 (SEQ NO:28 y 124 (secuencia de na de ratón), SEQ ID NO:29 y 125 (secuencia de aa de ratón)), IL-21 (SEQ ID NO:14 y 132 (secuencia de na de ratón), SEQ ID NO:15 y 133 (secuencia de aa de ratón), SEQ ID NO:16 (secuencia de na humana), SEQ ID NO:17 (secuencia de aa humana)), IL-23, IL-27 (SEQ NO:26 (secuencia de na de ratón), SEQ ID NO:27 (secuencia de aa de ratón)) e IL-33, subunidades funcionales de las interleuquinas, así como fusiones de las interleuquinas tales como IL15-RLI (SEQ NO:114 (secuencia de na), SEQ ID NO:115 (secuencia de aa)) con una fusión de IL15 al dominio sushi de IL-15R α , y variantes mejoradas tales como la hIL2-C125A humana de la IL2 superagonista (SEQ NO:24 y 126 (secuencia de na), SEQ ID NO:25 y 127 (secuencia de aa)). Se ha proporcionado la información de la secuencia de las interleuquinas ilustrativas, las fusiones y las variantes.

Los expertos en la materia reconocerán que las secuencias, por ejemplo, secuencias humanas o de ratón, del resto de las interleuquinas son conocidas en la técnica y se pueden obtener fácilmente. En algunas realizaciones, las interleuquinas usadas en las proteínas de fusión comparten al menos un 80 %, 90 %, 95 %, 99 % o 100 % de identidad con las interleuquinas identificadas anteriormente.

- 5 La presente divulgación no se limita al uso de cualesquiera interferones concretos en las proteínas de fusión. En algunos aspectos, los interferones se seleccionan entre IFN α 1 (SEQ NO:12 y 134 (secuencia de na de ratón), SEQ ID NO:13 y 135 (secuencia de aa de ratón)), IFN α 2, IFN β 1, IFN ϵ 1, IFN γ , IFN κ e IFN ω . Se ha proporcionado la información de la secuencia de los interferones ilustrativos. Los expertos en la materia reconocerán que las secuencias, por ejemplo, secuencias humanas o de ratón, de los interferones restantes se conocen en la técnica y se obtienen fácilmente. En algunos aspectos, los interferones usados en las proteínas de fusión comparten al menos un 80 %, 90 %, 95 %, 99 % o 100 % de identidad con las interleuquinas identificadas anteriormente.

- 10 La presente divulgación no se limita al uso de cualquier factor de necrosis tumoral concreto (TNF) en las proteínas de fusión. En algunos aspectos, los TNF se seleccionan entre TNF α (SEQ NO:20 y 128 (secuencia de na humana), SEQ ID NO:21 y 129 (secuencia de aa humana)), CD40L, EDA, FASL, LTA, LTB, RANKL, OX40L, TNFSF7, TNFSF8, TNFSF9, TNFSF12, TNFSF13, TNFSF13B, F18, TRAIL, BAFF, 4-1BBL y 4-1BB. Se ha proporcionado la información de la secuencia de los TNF ilustrativos. Los expertos en la materia reconocerán que las secuencias, por ejemplo, secuencias humanas o de ratón, de los TNF restantes se conocen en la técnica y se obtienen fácilmente. En algunas realizaciones, los TNF usados en las proteínas de fusión comparten al menos un 80 %, 90 %, 95 %, 99 % o 100 % de identidad con las interleuquinas identificadas anteriormente.

- 15 En algunas realizaciones preferidas, el agente inmunoestimulador es el polipéptido IL-15 (SEQ ID NO:7, 8, 116 (secuencias de na humanas), SEQ ID NO:9 y 117 (secuencia de aa humana)) o una fusión de IL15-IL15R α tal como IL15-RLI (SEQ NO:114 (secuencia de na), SEQ ID NO:115 (secuencia de aa) con una fusión de IL15 al dominio sushi de IL-15R α . Las subunidades para la fusión de IL15-RLI se identifican preferentemente por la fusión de SEQ ID NO:5 (dominio sushi de IL15R α), SEQ ID NO:6 (Enlazador 20) y SEQ ID NO:7 (hIL15). las secuencias y construcciones de IL15-RIL se describen adicionalmente en la publicación de patente estadounidense 20090238791.

- 20 IL15 es una citoquina que posee todas las calidades necesarias para estilar una potente respuesta inmunitaria; induce la activación de los linfocitos T y la división celular, activa las rutas efectoras citotóxicas en los linfocitos T y NK, y soporta la longevidad de los linfocitos T. Basándose en estas propiedades, IL15 se ha considerado una de las citoquinas más atractivas para la inmunoterapia tumoral. La administración de IL15 se ha evaluado en ensayos en fase I/II donde se ha documentado que IL15 recombinante tiene un perfil de seguridad aceptable.

- 25 Usando la estrategia de direccionamiento descrita en el presente documento, la presente invención ofrece un medio de dirigir selectivamente IL15 a macrófagos asociados a tumores. La estrategia de los inventores permite aprovechar el potencial terapéutico completo de liberación intratumoral localizada de IL15 de una manera que no se había conseguido anteriormente.

- 30 Las realizaciones de la presente invención proporcionan proteínas de fusión y ácidos nucleicos que comprenden dichas proteínas de fusión, que comprenden un agente inmunoestimulador (por ejemplo, el polipéptido IL15, el receptor de IL15, o un fragmento del mismo) fusionado a una unidad de direccionamiento que dirige el polipéptido IL15 a un macrófago asociado a tumor. En algunas realizaciones, la unidad de direccionamiento se une a CD206. En algunas realizaciones, la unidad de direccionamiento es una inmunoglobulina o fragmento de la misma que se une específicamente a CD206. En algunas realizaciones, la inmunoglobulina es un anticuerpo de dominio único (sdAb) fragmento o fragmentos variables monocatenarios (scFv), aunque se contemplan específicamente otros anticuerpos o fragmentos de anticuerpos. En algunas realizaciones, el polipéptido de fusión es 206RLI.

- 35 La presente divulgación no se limita a agentes inmunoestimuladores concretos. Los ejemplos incluyen, aunque no de forma limitativa, IL-15, citoquinas adicionales (por ejemplo, interferón alfa, interferón gamma, interleuquina-21, interleuquina-17, interleuquina-18, interleuquina-27, TNF- α , interleuquina 2, interleuquina 7, interleuquina 12); ligandos coestimuladores (por ejemplo, 41bb, CD80, CD86); y fragmentos de anticuerpos con actividad agonista o antagonista contra los puntos de control inmunitarios (por ejemplo, anti-PD1, anti-CTLA4, etc.).

- 40 La presente invención no se limita a unidades de direccionamiento o dianas concretas. Los ejemplos incluyen, aunque no de forma limitativa, el receptor de manosa (CD206), el receptor beta de folato (FOLR2) y leugmain (LGMN). Se identifican otras estructuras diana en los macrófagos media una evaluación de la expresión del marcador superficial. En algunos aspectos, otros subconjuntos de células estromales tales como fibroblastos asociados a tumores sustituyen el tipo de célula diana, y en este caso, la proteína activadora del fibroblasto (FAP), S100A4 y FSP-1 son ejemplos de dianas.

3. Fusiones de la unidad de direccionamiento y los agentes inmunoestimuladores

- 45 En algunas realizaciones, la presente invención proporciona proteínas de fusión que comprenden una unidad de direccionamiento en asociación operativa con un agente inmunoestimulador. Las unidades de direccionamiento y los agentes inmunoestimuladores preferidos se identifican anteriormente. En algunas realizaciones preferidas, la unidad de direccionamiento es una proteína de unión a antígeno, por ejemplo, un anticuerpo, inmunoglobulina o fragmentos

de los mismos, nanocuerpo, scFv, etc. En algunos aspectos preferidos de la divulgación, el agente inmunoestimulador es un polipéptido seleccionado entre el grupo que consiste en interleuquina, e interferón y un TNF.

Preferentemente, la unidad de direccionamiento y el agente inmunoestimulador están conectados operativamente entre sí por un enlazador. Como se usa en el presente documento, los "enlazadores" son péptidos de 1 a 50 aminoácidos de longitud y se seleccionan o diseñan normalmente para ser no estructurados y flexibles. Estos incluyen, aunque no de forma limitativa, péptidos sintéticos ricos en Gly, Ser, Thr, Gln, Glu u otros aminoácidos que se asocian frecuentemente con regiones no estructuradas en proteínas naturales. (Véase, por ejemplo, Dosztanyi Z., V. Csizmok, P. Tompa, e I. Simon (2005). IUPred: servidor web para la predicción de regiones no estructuradas intrínsecamente de proteínas basadas en un contenido de energía estimado. Bioinformatics (Oxford, Inglaterra), 21(16), 3433-4.) Los ejemplos no limitantes de secuencias enlazadoras adecuadas se describen en la sección de Ejemplos e incluyen (G₄S)₃ (GGGGSGGGSGGGGS; SEQ ID NO:110), bisagra de IgG2 de llama (AHHSEDPSSKAPKAPMA; SEQ ID NO: 109, véanse también, SEQ ID NO:4 SEQ ID NO:113) o los enlazadores de la bisagra de IgA humana (SPSTPPTSPSTPPAS SEQ ID NO:147). Será fácilmente entendible que se pueden utilizar otros enlazadores.

la presente invención no se limita a cualquier proteína de fusión concreta que comprende una unidad de direccionamiento en asociación operativa con un agente inmunoestimulador. Se entenderá que las unidades de direccionamiento descritas anteriormente pueden emparejarse con cualquiera de los agentes inmunoestimuladores. La Tabla 4 proporciona ejemplos no limitantes de proteínas de fusión de la presente invención.

Tabla 4.

SEQ ID NO:	SECUENCIA TIPO AMINOÁCIDO (AA) ÁCIDOS NUCLEICOS (NA)	UNIDAD DIRECCIONAMIENTO	DE AGENTE INMUNOESTIMULADOR
1	NA	nanocuerpo CD206	IL15-RLI
2	AA	nanocuerpo CD206	IL15-RLI
138	NA	nanocuerpo CD206	hIL15
139	NA	nanocuerpo CD206	hIL2
140	NA	CL10scFV	IL15-RLI
141	NA	FOLR2sdAB	IL15-RLI
142	NA	FOLR2sdAB	hIL15
143	NA	FOLR2sdAB	hIL2
144	NA	nanocuerpo CD206	IL15-RLI
145	NA	nanocuerpo CD206	hIL15
146	NA	nanocuerpo CD206	hIL2
153	NA	nanocuerpo CD206	hIL18
154	NA	nanocuerpo CD206	hIL17
155	NA	nanocuerpo CD206	hTNFa
156	NA	nanocuerpo CD206	hIFNa
157	NA	nanocuerpo CD206	hIL21
158	NA	FOLR2sdAB	hIL18
159	NA	FOLR2sdAB	hIL17
160	NA	FOLR2sdAB	hTNFa
161	NA	FOLR2sdAB	hIFNa
162	NA	FOLR2sdAB	hIL21
163	NA	nanocuerpo CD206	h41BBL
164	NA	FOLR2sdAB	h41BBL
165	NA	nanocuerpo CD206	hOX40L
166	NA	FOLR2sdAB	hOX40L
167	NA	nanocuerpo CD206	hCD40L
168	NA	FOLR2sdAB	hCD40L
169	NA	nanocuerpo CD206	hIL17
170	NA	FOLR2sdAB	hIL17

Las proteínas de fusión de la presente invención no se limitan a las secuencias concretas desveladas en la Tabla 4. En algunas realizaciones, la presente invención abarca variantes de las secuencias identificadas. Por ejemplo, en algunas realizaciones, la presente invención proporciona variantes de las secuencias relacionadas en la tabla 4 que

tienen al menos un 80 %, 90 %, 95 %, 99 % o 100 % identidad con las proteínas de fusión (es decir, las secuencias de aminoácidos codificadas por las secuencias).

4. Vectores y expresión

En algunas realizaciones, la presente invención proporciona ácidos nucleicos que codifican las proteínas de unión a antígeno y la fusión de proteínas como se ha descrito anteriormente. En algunas realizaciones, la presente invención proporciona vectores que comprenden las secuencias de ácidos nucleicos, así como células hospedadoras que comprenden los vectores que se utilizan para la expresión de las proteínas de unión a antígenos y/o las proteínas de fusión. En algunas realizaciones, la presente invención proporciona vectores y sistemas de expresión recombinantes para expresar los péptidos y construcciones descritos en el presente documento. La presente invención no se limita a vectores de expresión concretos. Se describen en el presente documento vectores ilustrativos y procedimientos de expresión.

En algunas realizaciones, los péptidos se expresan usando cualquier vector y sistema de expresión adecuados. En algunas realizaciones, los péptidos se expresan en vectores de expresión bacterianos o eucariotas (por ejemplo, vectores disponibles comercialmente). En algunas realizaciones, los péptidos se expresan en retrovirus (por ejemplo, vectores adeno, adenoasociados o lentivíricos). Los vectores adecuados se introducen en células hospedadoras adecuadas (por ejemplo, células hospedadoras bacterianas o eucariotas), se induce la expresión y se aíslan los péptidos usando cualquier procedimiento adecuado.

Los péptidos, polipéptidos y proteínas de la presente invención pueden producirse mediante técnicas recombinantes. Por tanto, por ejemplo, un polinucleótido que codifica un péptido, polipéptido o proteína de la presente invención puede estar incluido en uno cualquiera de una variedad de vectores de expresión para expresar un polipéptido. En algunas realizaciones de la presente invención, los vectores incluyen, aunque no de forma limitativa, secuencias cromosómicas, no cromosómicas y secuencias sintéticas o de ADN (por ejemplo, derivados de SV40, plásmidos bacterianos, ADN de fagos; baculovirus, plásmidos de levaduras, vectores derivados de combinaciones de plásmidos y ADN de fagos, vectores retrovíricos y ADN vírico tal como vaccinia, adenovirus, virus de la viruela aviar y pseudorrabia). Se contempla que se puede usar cualquier vector siempre que sea replicable y viable en el hospedador.

En particular, algunas realizaciones de la presente invención proporcionan construcciones recombinantes que comprenden una o más de las secuencias como se ha descrito más ampliamente. En algunas realizaciones de la presente invención, las construcciones comprenden un vector, tal como un plásmido o vector vírico, en el que se ha insertado una secuencia de la invención, en una orientación directa o inversa. En otras realizaciones adicionales, la secuencia estructural heteróloga se ensambla en una fase adecuada con las secuencias de inicio de la traducción y las secuencias de terminación. En realizaciones preferidas de la presente invención, la secuencia de ADN adecuada se inserta en el vector que utiliza cualquiera de una variedad de procedimientos. En general, la secuencia de ADN se inserta en sitio(s) adecuados de la endonucleasa de restricción mediante procedimientos conocidos en la técnica.

los expertos en la técnica conocen grandes cantidades de vectores adecuados y están disponibles comercialmente. Dichos vectores incluyen, aunque no de forma limitativa, los siguientes vectores: 1) Bacteriano--pQE70, pQE60, pQE-9 (Qiagen), pBS, pD10, phagescript, psiX174, pbluescript SK, pBSKS, pNH8A, pNH16a, pNH18A, pNH46A (Stratagene); ptrc99a, pKK223-3, pKK233-3, pDR540, pRIT5 (Pharmacia); 2) Eucariota--pWLNEO, pSV2CAT, pOG44, PXT1, pSG (Stratagene) pSVK3, pBPV, pMSG, pSVL (Pharmacia); y 3) Baculovirus-pPbac y pMbac (Stratagene). Se puede usar cualquier otro plásmido o vector siempre que sea replicable y viable en el hospedador. En algunas realizaciones preferidas de la presente invención, los vectores de expresión de mamífero comprenden un origen de replicación, un promotor y un potenciador adecuados, y también cualesquiera sitios de unión a ribosoma, sitios de poliadenilación, sitios donantes y aceptores de corte y empalme secuencias de terminación de la transcripción y secuencias no transcritas flanqueantes en 5' que sean necesarios. En otras realizaciones, se pueden usar secuencias de ADN derivadas del corte y empalme de SV40, y sitios de poliadenilación para proporcionar los elementos genéticos no transcritos requeridos.

En determinadas realizaciones de la presente invención, la secuencia de ADN en el vector de expresión está unida operativamente a secuencia control de la expresión adecuadas (promotor) para dirigir la síntesis de ARNm. Los promotores útiles en la presente invención incluyen, aunque no de forma limitativa, el promotor de LTR o SV40, el lac o trp de E. coli, PL y PR del fago lambda, los promotores T3 y T7, y el citomegalovirus (CMV) inmediato temprano, la timidina quinasa del virus del herpes simple (VHS), y los promotores de la metalotioneina-I de ratón y otros promotores conocidos por controlar la expresión del gen en células procariotas o eucariotas o sus virus. En otras realizaciones de la presente invención, los vectores de expresión recombinantes incluyen orígenes de replicación y marcadores seleccionables que permiten la transformación de la célula hospedadora (por ejemplo, resistencia a la dihidrofolato reductasa o a la neomicina para el cultivo de células eucariotas, o resistencia a la tetraciclina o la ampicilina en E. coli).

En algunas realizaciones de la presente invención, la transcripción del ADN que codifica los polipéptidos de la presente invención por eucariotas superiores se aumentó insertando una secuencia potenciadora en el vector. Los potenciadores son elementos de ADN que actúan en CIS, usualmente de aproximadamente 10 a 300 pb que actúan sobre un promotor para aumentar su transcripción. Los potenciadores útiles en la presente invención incluyen, aunque no de forma limitativa, el potenciador del SV40 en el lado posterior del origen de replicación de 100 a 270 pb, un potenciador del promotor temprano del citomegalovirus, el potenciador del polioma en el lado tardío del origen de

replicación y los potenciadores de adenovirus.

En otras realizaciones, el vector de expresión contiene también un sitio de unión a ribosoma para el inicio de la traducción y un terminador de la transcripción. En otras realizaciones más de la presente invención, el vector puede incluir también secuencias adecuadas para amplificar la expresión.

En algunas realizaciones, se utilizan vectores retrovíricos para la expresión en una célula hospedadora adecuada. La producción de un vector retrovílico recombinante que transporta un gen de interés se consigue normalmente en dos etapas. En primer lugar, el gen de interés se inserta en un vector retrovílico que contiene las secuencias necesarias para la expresión eficaz del gen de interés (incluyendo los elementos promotores y/o potenciadores que se pueden proporcionar por las repeticiones terminales largas víricas [LTR] o por un promotor/potenciador interno y señales de corte y empalme relevantes), las secuencias requeridas para el empaquetamiento eficaz del ARN vírico en viriones infecciosos (por ejemplo, la señal de empaquetamiento [Psi], el sitio de unión al cebador del ARNt [-PBS], las secuencias reguladoras en 3' requeridas para la transcripción inversa [+PBS] y las LTR víricas). Las LTR contienen las secuencias requeridas para la asociación del ARN genómico vírico, las funciones de la transcriptasa inversa y la integrasa, y las secuencias implicadas en dirigir la expresión del ARN genómico que se va a empaquetar en partículas víricas. Por motivos de seguridad, muchos vectores retrovíricos recombinantes carecen de copias funcionales de los genes que son esenciales para la replicación vírica (estos genes esenciales bien se eliminan o se desactivan); se dice que el virus resultante es defectivo o incompetente en la replicación.

En segundo lugar, tras la construcción del vector recombinante, el ADN del vector se introduce en la línea celular de empaquetamiento. Las líneas celulares de empaquetamiento proporcionan las proteínas víricas requeridas en trans para el empaquetamiento del ARN genómico vírico en partículas víricas que tienen el intervalo del hospedador deseado (es decir, el gag codificado por el virus, las proteínas pol y env). El intervalo del hospedador está controlado, en parte, por el tipo de producto génico de la envoltura expresado sobre la superficie de la partícula vírica. Las líneas celulares de empaquetamiento pueden expresar productos génicos de la envoltura ecotróficos, anfotróficos o xenotróficos. Como alternativa, la línea celular de empaquetamiento puede carecer de secuencias que codifican una proteína de la envoltura vírica (env). En este caso, la línea celular de empaquetamiento empaquetará el genoma vírico en partículas que carecen de una proteína asociada a membrana (por ejemplo, una proteína env). A fin de producir partículas víricas que contienen una proteína asociada a membrana que permitirá la entrada del virus en una célula, la línea celular de empaquetamiento que contiene las secuencias retrovíricas se transfecta con secuencias que codifican la proteína asociada a membrana (por ejemplo, la proteína G del virus de la estomatitis vesicular [VSV]). La célula de empaquetamiento transfectada producirá a continuación partículas víricas que contienen la proteína asociada a membrana expresada por la línea celular de empaquetamiento transfectada; estas partículas víricas, que contienen ARN genómico vírico derivado de un virus encapsidado por las proteínas de la envoltura de otro virus se dice que son partículas víricas pseudotipadas.

los vectores retrovíricos recombinantes usados comúnmente se derivan del virus anfotrópico de la leucemia murina de Moloney (MoMLV) (Miller y Baltimore, *Mol. Cell. Biol.*, 6:2895 [1986]). El sistema MoMLV tiene diversas ventajas: 1) este retrovirus específico puede infectar muchos tipos de células diferentes, 2) están disponibles líneas celulares de empaquetamiento establecidas para la producción de partículas víricas de MoMLV recombinantes y 3) los genes transferidos se integran permanentemente en el cromosoma de la célula diana. Los sistemas de vectores MoMLV establecidos comprenden un vector de ADN que comprende una pequeña porción de la secuencia retrovítica (la repetición terminal larga vírica o "LTR" y el empaquetamiento o la señal "psi") y una línea celular de empaquetamiento. El gen que se va a transferir se inserta en el vector de ADN. Las secuencias víricas presentes en el vector de ADN proporcionan las señales necesarias para la inserción o empaquetamiento del ARN del vector en la partícula vírica para la expresión del gen insertado. La línea celular de empaquetamiento proporciona las proteínas víricas requeridas para el ensamblaje de la partícula (Markowitz y col., *J. Virol.*, 62:1120 [1988]).

Otros retrovectores usados comúnmente que se derivan de lentivirus incluyen, aunque no de forma limitativa, el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) o el virus de la inmunodeficiencia de felino (VIF). Los vectores lentivíricos tienen la ventaja de ser capaces de infectar células no replicantes.

La baja titulación e infección ineficaz de determinados tipos de células por retrovectores se ha superado por el uso de vectores retrovíricos pseudotipados que contienen la proteína G de VSV como la proteína asociada a membrana. A diferencia de las proteínas de la envoltura retrovítica que se unen a un receptor de proteína específico de la superficie celular para ganar la entrada en la célula, la proteína G de VSV interactúa con un componente fosfolípido de la membrana plasmática (Mastromarino y col., *J. Gen. Virol.*, 68:2359 [1977]). Debido a que la entrada de VSV en una célula no es dependiente de la presencia de receptores específicos de la proteína, VSV tiene un intervalo hospedador extremadamente amplio. Los vectores retrovíricos pseudotipados que tienen la proteína G de VSV tienen un intervalo de hospedadores alterado característico de VSV (es decir, pueden infectar la práctica totalidad de células de especie de vertebrados, invertebrados e insectos). De manera importante, los vectores retrovíricos pseudotipados para G de VSV se pueden concentrar 2000 veces o más mediante ultracentrifugación sin una pérdida significativa de infectividad (Burns y col., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90:8033 [1993]).

La proteína G de VSV también se ha utilizado para pseudotipar vectores retrovíricos basándose en el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) (Naldini y col., *Science* 272:263 [1996]). Por tanto, la proteína G de VSV se puede

usar para generar una variedad de vectores retrovíricos pseudotipados y esto no se limita a vectores basados en MoMLV.

La mayoría de retrovirus pueden transferir o integrar una forma lineal bicatenaria del virus (el provirus) en el genoma de la célula receptora solamente si la célula receptora está en ciclo (es decir, dividiéndose) en el momento de la infección. Los retrovirus para los que se ha demostrado que infectan solamente células en división, o con mayor eficacia, incluyen MLV, virus de la necrosis del bazo, virus del sarcoma de Rous, virus de la inmunodeficiencia humana y otros vectores lentivíricos.

En aspectos adicionales, la presente divulgación proporciona células hospedadoras que contienen las construcciones anteriormente descritas. En algunos aspectos de la presente divulgación, la célula hospedadora es una célula eucariota superior (por ejemplo, célula de mamífero o de insecto). En otros aspectos de la presente divulgación, la célula hospedadora es una célula hospedadora inferior (por ejemplo, una célula de levadura). En otros aspectos adicionales de la presente divulgación, la célula hospedadora puede ser una célula procariota (por ejemplo, una célula bacteriana). Los ejemplos específicos de célula hospedadora incluyen, aunque no de forma limitativa, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Bacillus subtilis*, y diversas especies de los géneros *Pseudomonas*, *Streptomyces* y *Staphylococcus*, así como *Saccharomyces cerevisiae*, *Schizosaccharomyces pombe*, células S2 de *Drosophila*, células Sf9 de *Spodoptera*, células de ovario de hámster chino (CHO), líneas COS-7 de fibroblastos de riñón de mono, (Gluzman, Cell 23:175 (1981)), C127, 3T3, 293, 293T, líneas de células HeLa y BHK, T-1 (línea de células de cultivo del tabaco), células de raíces y raíces cultivadas en rizosecreción (Gleba y col., (1999) Proc Natl Acad Sci USA 96:5973-5977).

Las construcciones en las células hospedadoras se pueden usar de forma recombinante para producir el producto génico codificado por la secuencia recombinante. En algunos aspectos, la introducción de la construcción en la célula hospedadora se puede llevar a cabo mediante transfección con fosfato de calcio, transfección mediada por DEAE-dextrano, o electroporación (véase, por ejemplo, Davis y col. (1986) Basic Methods in Molecular Biology). Como alternativa, en algunos aspectos de la presente invención, los polipéptidos de la invención se pueden producir sintéticamente mediante sintetizadores de péptidos convencionales.

Las proteínas se pueden expresar en células de mamífero, levaduras, bacterias u otras células bajo el control de promotores adecuados. Se pueden emplear también sistemas de traducción exentos de células para producir dichas proteínas usando ARN derivados de las construcciones de ADN de la presente invención. Los vectores de clonación y expresión adecuados para su uso en hospedadores procariotas y eucariotas se han descrito en Sambrook, y col. (1989) Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Segunda edición, Cold Spring Harbor, N.Y.

En algunos aspectos de la presente divulgación, después de la transformación de una cepa hospedadora adecuada, y el crecimiento de la cepa hospedadora hasta una densidad celular adecuada, el promotor seleccionado se indujo por medios adecuados (por ejemplo, desplazamiento de temperatura o inducción química) y las células se cultivaron durante un periodo adicional. En otros aspectos de la presente divulgación, las células se recogieron de forma típica mediante centrifugación, se rompieron por medios físicos o químicos, y el extracto en bruto resultante se retuvo para purificación adicional. En otros aspectos adicionales de la presente divulgación, las células microbianas utilizadas en la expresión de las proteínas se pueden romper por cualquier procedimiento conveniente, incluidos ciclos de congelación-descongelación, ultrasonidos, rotura mecánica o uso de agentes lisantes celulares.

5. Formulaciones

cuando se contemplan aplicaciones clínicas, en algunas realizaciones de la presente invención, las proteínas de fusión se preparan como parte de una composición farmacéutica en una forma adecuada para la aplicación prevista. En general, esto conlleva preparar composiciones que estén esencialmente exentas de pirógenos, así como de otras impurezas que podrían ser perjudiciales para seres humanos o animales. Sin embargo, en algunas realizaciones de la presente invención, una formulación de una composición con una proteína de fusión se puede administrar usando una o más de las vías descritas en el presente documento.

En algunas realizaciones, las composiciones de proteínas de fusión se utilizan junto con sales y tampones adecuados para convertir las composiciones de administración en estables para permitir su absorción por las células diana. Se emplean también tampones cuando las composiciones se introduce en un paciente. Las composiciones acuosas comprenden una cantidad eficaz de composición dispersa en un transportador farmacéuticamente aceptable o un medio acuoso. Dichas composiciones se denominan también inóculos.

La expresión "farmacéutica o farmacológicamente aceptable" se refiere a entidades y composiciones moleculares que no producen reacciones adversas, alérgicas u otras reacciones indeseadas cuando se administran a un animal o a un ser humano. Como se usa en el presente documento, "transportador farmacéuticamente aceptable" incluye todos y cada uno de los disolventes, medios de dispersión, recubrimientos, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes isotónicos y retardantes de la absorción y similares. Salvo en la medida en la que cualquier medio o agente convencional sea incompatible con los vectores o células de la presente invención, está contemplado su uso en composiciones terapéuticas. Los principios activos complementarios también pueden incorporarse a las composiciones.

En algunas realizaciones de la presente invención, las composiciones activas incluyen preparaciones farmacéuticas clásicas. La administración de estas composiciones de acuerdo con la presente invención es por cualquier vía habitual siempre que el tejido diana esté disponible mediante dicha vía. Esto incluye la oral, nasal, bucal, rectal, vaginal o tópica. Como alternativa, la administración puede ser ortotópica, mediante inyección intradérmica, subcutánea, intramuscular, intraperitoneal o intravenosa.

Las composiciones pueden administrarse también por vía parenteral o intraperitoneal o intratumoral. Las soluciones de los principios activos en forma de base libre o sales farmacológicamente aceptables se preparan en agua mezclada adecuadamente con un tensioactivo, tal como hidroxipropilcelulosa. También se pueden preparar dispersiones en glicerol, polietilenglicoles líquidos y mezclas de los mismos y en aceites. En condiciones normales de almacenamiento y utilización, estas preparaciones contienen un conservante para prevenir el crecimiento de microorganismos.

Las formas de dosificación adecuadas para uso inyectable incluyen soluciones o dispersiones acuosas estériles y polvos estériles para la preparación extemporánea de soluciones o dispersiones inyectables estériles. El vehículo puede ser un disolvente o medio de dispersión que contenga, por ejemplo, agua, etanol, poliol (por ejemplo, glicerol, propilenglicol y polietilenglicol líquido, y similares), mezclas adecuadas de los mismos, y aceites vegetales. La fluidez adecuada puede mantenerse, por ejemplo, mediante el uso de un recubrimiento, tal como lecitina, por el mantenimiento del tamaño de partículas requerido en el caso de una dispersión y mediante el uso de tensioactivos. La prevención de la acción de microorganismos puede lograrse por medio de varios agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabenos, clorobutanol, fenol, ácido sórbico, timerosal y similares. En muchos casos, puede ser preferible incluir agentes isotónicos, por ejemplo, azúcares o cloruro sódico. Puede lograrse la absorción prolongada de la composición inyectable mediante el uso en las composiciones de agentes que retrasen la absorción, por ejemplo, monoestearato de aluminio y gelatina.

Las soluciones inyectables estériles se preparan incorporando los principios activos en la cantidad necesaria en el disolvente adecuado con otros diversos ingredientes indicados anteriormente, según sea necesario, seguido de esterilización por filtración. En general, las dispersiones se preparan mediante la incorporación de diversos principios activos esterilizados en un vehículo estéril que contiene el medio de dispersión básico y los otros ingredientes requeridos de los enumerados anteriormente. En el caso de polvos estériles para la preparación de soluciones inyectables estériles, los procedimientos de preparación preferidos son las técnicas de secado a vacío y de criodesecación que dan como resultado un polvo del principio activo más cualquier ingrediente deseado adicional de una de sus soluciones anteriormente esterilizadas por filtración.

Tras la formulación, las composiciones se administran de una manera compatible con la formulación de dosificación y en una cantidad tal que sea terapéuticamente eficaz. Las formulaciones se administran fácilmente en una variedad de formas de dosificación tales como soluciones inyectables, cápsulas de liberación de fármacos y similares. Para la administración parenteral en una solución acuosa, por ejemplo, la solución puede tamponarse de forma adecuada, si es necesario, y el diluyente líquido se vuelve en primer lugar isotónico con suficiente solución salina o glucosa. Estas soluciones acuosas particulares son especialmente adecuadas para la administración intravenosa, intramuscular, subcutánea e intraperitoneal. Por ejemplo, una dosificación podría disolverse en 1 ml de solución de NaCl isotónica y se añade a 1000 ml de fluido de hipodermoclasia o se inyecta en el sitio propuesto de la infusión, (véase, por ejemplo "Remington's Pharmaceutical Sciences" 15ª Edición, páginas 1035-1038 y 1570-1580). En algunas realizaciones de la presente invención, las partículas de sustancias activas o agentes se formulan en una mezcla terapéutica que comprende aproximadamente de 0,0001 a 1,0 miligramos, o aproximadamente de 0,001 a 0,1 miligramos, o aproximadamente de 0,1 a 1,0 o incluso aproximadamente 10 miligramos por dosis o así. Se pueden administrar dosis múltiples.

Formulaciones adicionales que son adecuadas para otros modos de administración incluyen supositorios vaginales y pesarios. También se puede usar un supositorio o pesario rectal. Los supositorios son formas de dosificación sólidas de diversos pesos y formas, habitualmente medicados, para su inserción en el recto, vagina o la uretra. Tras la inserción, los supositorios se reblandecen, se funden o se disuelven en los fluidos de la cavidad. En general, para los supositorios, los aglutinantes y transportadores tradicionales pueden incluir, por ejemplo, polialquilenglicoles o triglicéridos; dichos supositorios se pueden conformar a partir de mezclas que contienen el principio activo en el intervalo de 0,5 % al 10 %, preferentemente 1 %-2 %. Los supositorios o pesarios vaginales suelen tener forma globular o de huevo y pesar aproximadamente 5 g cada uno. Las medicaciones vaginales están disponibles en una variedad de formas físicas, por ejemplo, cremas, geles o líquidos, que se alejan del concepto clásico de supositorios. Además, los supositorios pueden utilizarse vinculados al cáncer de colon.

"Tratar" dentro del contexto de la de la presente invención, significa un alivio, en todo o en parte, de síntomas asociados con un trastorno o enfermedad, o ralentizar, inhibir o detener la progresión o empeoramiento adicionales de dichos síntomas, o la prevención o profilaxia de la enfermedad o trastorno en un sujeto en riesgo de desarrollar la enfermedad o trastorno. Por tanto, por ejemplo, tratar el cáncer puede incluir inhibir o prevenir la metástasis del cáncer, una reducción en la velocidad y/o número de metástasis, una reducción en el volumen tumoral del cáncer ya metastatizado, una remisión completa o parcial del cáncer ya metastatizado o cualquier otro beneficio terapéutico. Como se usa en el presente documento, una "cantidad terapéuticamente eficaz" de un compuesto de la invención se refiere a una cantidad del compuesto que alivia, en todo o en parte, síntomas asociados con un trastorno o enfermedad, o ralentiza, inhibe o detiene la progresión o empeoramiento adicionales de dichos síntomas, o previene o proporciona profilaxia a

la enfermedad o trastorno en un sujeto en riesgo de desarrollar la enfermedad o trastorno.

Un sujeto es cualquier animal que se puede beneficiar de la administración de un compuesto como se describe en el presente documento. En algunas realizaciones, el sujeto es un mamífero, por ejemplo, un ser humano, un primate, un perro, un gato, un caballo, una vaca, un cerdo, un roedor, tal como por ejemplo una rata o ratón. Normalmente, el sujeto es un ser humano.

Una cantidad terapéutica eficaz de un compuesto como se describe en el presente documento usado en la presente invención puede variar dependiendo de la vía de administración y de la forma de dosificación. Las cantidades eficaces de los compuestos de la invención habitualmente están comprendidas en el intervalo de aproximadamente 0,001 hasta 100 mg/kg/día y, más típicamente, en el intervalo de aproximadamente 0,05 hasta 10 mg/kg/día. Normalmente, el compuesto o compuestos usados en la presente invención se seleccionan para proporcionar una formulación que presente un alto índice terapéutico. El índice terapéutico es la relación de la dosis entre efectos tóxicos y terapéuticos que se puede expresar como el cociente entre la DL50 y DE50. La DL50 es la dosis letal para el 50 % de la población y la DE50 es la dosis terapéuticamente eficaz en el 50 % de la población. Los valores de DL50 y DE50 se determinan según procedimientos farmacéuticos convencionales en cultivos con células animales o con animales experimentales.

La presente invención también proporciona composiciones farmacéuticas y medicamentos que se pueden preparar combinando uno o más compuestos descritos en el presente documento, sales farmacéuticamente aceptables los mismos, estereoisómeros de los mismos, tautómeros de los mismos o solvatos de los mismos, con transportadores, excipientes, aglutinantes, diluyentes o similares farmacéuticamente aceptables para inhibir o tratar el cáncer de próstata primario y/o metastásico. Dichas composiciones pueden estar en la forma de, por ejemplo, gránulos, polvos, comprimidos, cápsulas, jarabe, supositorios, inyecciones, emulsiones, elixires, suspensiones o soluciones. Las presentes composiciones se pueden formular para diversas vías de administración, por ejemplo, por oral, parenteral, tópica, rectal, nasal, o mediante un depósito implantado. La administración parenteral o sistémica incluye, aunque no de forma limitativa, inyecciones subcutáneas, intravenosas, intraperitoneales e intramusculares. Las siguientes formas de dosificación se proporcionan a modo de ejemplo, y no se deben considerarse como limitantes de la presente invención.

Para la administración oral, bucal y sublingual, polvos, suspensiones, gránulos, comprimidos, píldoras, cápsulas, cápsulas de gel y comprimidos ovalados son aceptables como formas de dosificación sólidas. Estas se pueden preparar, por ejemplo, mezclando uno o más compuestos de la presente invención, o sales o tautómeros farmacéuticamente aceptables de los mismos, con al menos un aditivo tal como almidón u otro aditivo. Los aditivos adecuados son sacarosa, lactosa, azúcar de celulosa, manitol, maltitol, dextrano, almidón, agar, alginatos, quitinas, quitosanos, pectinas, goma de tragacanto, goma arábiga, gelatinas, colágenos, caseína, albúmina, polímeros sintéticos o semisintéticos o glicéridos. Opcionalmente, las formas de dosificación orales pueden contener otros ingredientes para ayudar en la administración, tales como un diluyente inactivo, o lubricantes tales como estearato de magnesio, o conservantes tales como parabeno o ácido sórbico, o antioxidantes tales como ácido ascórbico, tocoferol o cisteína, un agente disgregante, aglutinantes, espesantes, tampones, edulcorantes, agentes aromatizantes o agentes perfumantes. Los comprimidos y las píldoras se pueden tratar adicionalmente con materiales de revestimiento adecuados conocidos en la técnica.

Las formas de dosificación líquidas para administración oral pueden estar en la forma de emulsiones, jarabes, elixires, suspensiones y soluciones farmacéuticamente aceptables, que pueden contener un diluyente inactivo, tal como agua. Las formulaciones farmacéuticas y los medicamentos se pueden preparar en forma de suspensiones o soluciones líquidas usando un líquido estéril, tales como, aunque no de forma limitativa, un aceite, agua, un alcohol y combinaciones de estos. Tensioactivos farmacéuticamente adecuados, agentes de suspensión, agentes emulsionantes, se pueden añadir para la administración oral o parenteral.

Como se ha observado anteriormente, las suspensiones pueden incluir aceites. Dichos aceites incluyen, aunque no de forma limitativa, aceite de cacahuete, aceite de sésamo, aceite de semillas de algodón, aceite de maíz y aceite de oliva. Las preparaciones en suspensión también pueden contener ésteres de ácidos grasos tales como oleato de etilo, miristato de isopropilo, glicéridos de ácido graso y glicéridos de ácido graso acetilados. Las formulaciones en suspensión pueden incluir alcoholes, tales como, aunque no de forma limitativa, etanol, alcohol isopropílico, alcohol hexadecílico, glicerol y propilenglicol. Los éteres, tales como aunque no de forma limitativa, poli(etilenglicol), hidrocarburos derivados del petróleo tales como aceite mineral y vaselina; y agua también se pueden usar en las formulaciones en suspensión.

Las formas de dosificación inyectables incluyen por lo general suspensiones acuosas o suspensiones oleosas que se pueden preparar utilizando un agente dispersante o humectante adecuado y un agente de suspensión. Las formas inyectables pueden estar en fase de solución o en forma de una suspensión, que se prepara con un disolvente o diluyente. Los disolventes o vehículos adecuados incluyen agua esterilizada, solución de Ringer o una solución salina isotónica acuosa. Como alternativa, pueden emplearse aceites estériles como disolventes o agentes de suspensión. Normalmente, el aceite o ácido graso es no volátil, incluyendo aceites naturales o sintéticos, ácidos grasos, monoglicéridos, diglicéridos o triglicéridos.

Para inyección, la formulación farmacéutica y/o el medicamento puede ser un polvo adecuado para la reconstitución

con una solución adecuada como se ha descrito anteriormente. Los ejemplos de estos incluyen, aunque no de forma limitativa, polvos criodesecados, secados por rotación o secador por pulverización, polvos amorfos, gránulos, sustancias precipitadas o en forma de partículas. Para inyección, las formulaciones pueden contener opcionalmente estabilizadores, modificadores del pH, tensioactivos, modificadores de la biodisponibilidad y combinaciones de estos.

5 Para administración rectal, las formulaciones farmacéuticas y los medicamentos pueden estar en la forma de un supositorio, una pomada, un enema, un comprimido o una crema para liberar el compuesto en los intestinos, flexura sigmoide y/o el recto. Los supositorios rectales se preparan mezclando uno o más compuestos de la presente invención, o sales o tautómeros farmacéuticamente aceptables del compuesto, con vehículos aceptables, por ejemplo, manteca de cacao o polietilenglicol, que está presente en una fase sólida a las temperaturas de almacenamiento
10 normales, y presentes en una fase líquida a dichas temperaturas adecuadas para liberar un fármaco en el interior del cuerpo, tal como en el recto. Los aceites también se pueden emplear en la preparación de formulaciones de tipo gelatina blanda y supositorios. El agua, solución salina, dextrosa acuosa y soluciones azucaradas relacionadas, y gliceroles, se pueden utilizar en la preparación de formulaciones en suspensión que también pueden contener agentes de suspensión tales como pectinas, carbómeros, metilcelulosa, hidroxipropilcelulosa y carboximetilcelulosa, así como
15 tampones y conservantes.

Los compuestos de la invención se pueden administrar a los pulmones mediante inhalación a través de la nariz o la boca. Las formulaciones farmacéuticas adecuadas para inhalación incluyen soluciones, pulverizadores, polvos secos o aerosoles que contienen cualesquiera disolventes apropiados y, opcionalmente, otros compuestos tales como, aunque no de forma limitativa, estabilizantes, agentes antimicrobianos, antioxidantes, modificadores del pH,
20 tensioactivos, modificadores de la biodisponibilidad y combinaciones de estos. Las formulaciones para la administración por inhalación contienen, como excipientes, por ejemplo, lactosa, polioxietileno-9-lauril éter, glicolato y desoxicolato. Los aerosoles acuosos y no acuosos se utilizan de forma típica para administrar los compuestos de la invención por inhalación.

Habitualmente, un aerosol acuoso se prepara formulando una solución o suspensión acuosa del compuesto junto con transportadores y estabilizantes convencionales farmacéuticamente aceptables. Los transportadores y estabilizantes varían según los requisitos del compuesto en particular, pero incluyen, de forma típica, tensioactivos no iónicos (TWEEN, Pluronic o polietilenglicol), proteínas inocuas tales como albúmina sérica, ésteres de sorbitán, ácido oleico, lecitina, aminoácidos tales como la glicina, tampones, sales, azúcares o alcoholes de azúcar. Los aerosoles generalmente se preparan a partir de soluciones isotónicas. También se puede usar una suspensión no acuosa (por
25 ejemplo, en un propulsor de fluorocarbono) para administrar los compuestos de la invención.

Los aerosoles que contienen compuestos para su uso de acuerdo con la presente invención se administran de forma conveniente usando un inhalador, atomizador, envase presurizado o un nebulizador y un propulsor adecuado, por ejemplo, sin limitación, diclorodifluorometano, triclorofluorometano, diclorotetrafluoroetano, nitrógeno, aire o dióxido de carbono presurizado. En el caso de un aerosol presurizado, la dosis unitaria se puede controlar proporcionando una
35 válvula para administrar una cantidad medida. Las cápsulas y los cartuchos de, por ejemplo, gelatina para su uso en un inhalador o insuflador se pueden formular conteniendo una mezcla de polvo del compuesto y una base de polvo adecuada tal como lactosa o almidón.

La administración de aerosoles de la presente invención usando nebulizadores sónicos es una ventaja porque los nebulizadores minimizan la exposición del agente a la cizalladura, lo que puede dar como resultado la degradación del compuesto.
40

Para la administración nasal, las formulaciones farmacéuticas y los medicamentos pueden ser un pulverizador, gotas nasales o un aerosol que contenga cualesquiera disolventes apropiados y, opcionalmente, otros compuestos tales como, aunque no de forma limitativa, estabilizantes, agentes antimicrobianos, antioxidantes, modificadores del pH, tensioactivos, modificadores de la biodisponibilidad y combinaciones de estos. Para su administración en forma de
45 gotas nasales, los compuestos se pueden formular en soluciones oleosas o en forma de gel. Para la administración de un aerosol nasal, se puede usar cualquier propulsor adecuado incluyendo aire comprimido, nitrógeno, dióxido de carbono, o un disolvente de bajo punto de ebullición de tipo hidrocarburo.

Las formas de dosificación para administración tópica (que incluye bucal y sublingual) o la administración transdérmica de los compuestos de la invención incluyen polvos, pulverizadores, pomadas, pastas, cremas, lociones, geles, soluciones y parches. El componente activo se puede mezclar en condiciones estériles con un transportador o excipiente farmacéuticamente aceptable, y con cualesquiera conservantes o tampones, que puedan ser necesarios. Los polvos y los pulverizadores se pueden preparar, por ejemplo, con excipientes tales como lactosa, talco, ácido silícico, hidróxido de aluminio, silicatos de calcio y polvo de poliamida, o mezclas de estas sustancias. Las pomadas, pastas, cremas y geles también pueden contener excipientes tales como grasas animales y vegetales, aceites, ceras,
55 parafinas, almidón, tragacanto, derivados de celulosa, polietilenglicoles, siliconas, bentonitas, ácido silícico, talco y óxido de cinc, o mezclas de los mismos.

Los parches transdérmicos tienen la ventaja añadida de proporcionar la administración controlada de un compuesto de la invención al organismo. Dichas formas de dosificación se pueden preparar disolviendo o dispersando el agente en el medio apropiado. Se pueden usar también potenciadores de la absorción para aumentar el flujo del compuesto

de la invención a través de la piel. La velocidad de dicho flujo puede controlarse ya sea proporcionando una membrana de control de la velocidad o dispersando el compuesto en una matriz polimérica o gel.

Además de dichas formas de dosificación representativas anteriormente descritas, los expertos en la materia conocen en general excipientes y vehículos farmacéuticamente aceptables y, por tanto, estos se incluyen en la presente invención. Dichos excipientes y vehículos se describen, por ejemplo, en

"Remingtons Pharmaceutical Sciences" Mack Pub. Co., Nueva Jersey (1991).

Las formulaciones de la invención pueden diseñarse para que sean de acción corta, de liberación rápida, acción prolongada y liberación sostenida como se describe más adelante. Por tanto, las formulaciones farmacéuticas también pueden formularse para liberación controlada o para liberación lenta.

Las presente composiciones también pueden comprender, por ejemplo, micelas o liposomas, o alguna otra forma encapsulada, o se puede administrar en una forma de liberación prolongada para proporcionar un efecto de almacenamiento y/o administración prolongada. Por tanto, las formulaciones farmacéuticas y los medicamentos se pueden comprimir en gránulos o cilindros e implantarse por vía intramuscular o subcutánea como inyecciones de depósito o como implantes tales como endoprótesis vasculares. Dichos implantes pueden emplear materiales inertes conocidos tales como siliconas y polímeros biodegradables.

Las dosificaciones específicas se pueden ajustar dependiendo de las condiciones de la enfermedad, la edad, el peso corporal, el estado de salud general, el sexo y la dieta del sujeto, intervalo de dosis, vías de administración, tasa de excreción y combinaciones de fármacos. Cualesquiera de las anteriores formas de dosificación que contienen cantidades eficaces están correctamente comprendidas en los límites de la experimentación rutinaria y, por tanto, correctamente comprendidas en el ámbito de la presente invención.

En algunas realizaciones de la presente invención, se proporcionan procedimientos y composiciones para su uso en el tratamiento de tumores. En algunas realizaciones, el cáncer es, por ejemplo, cáncer de pulmón, cáncer de mama, cáncer de páncreas, cáncer de próstata, melanoma o mieloma múltiple.

Otros trastornos de proliferación celular, o cánceres, considerados como tratables con los procedimientos de la presente invención incluyen sarcomas y carcinomas humanos, incluyendo, aunque no de forma limitativa, fibrosarcoma, mixosarcoma, liposarcoma, condrosarcoma, sarcoma osteogénico, cordoma, angiosarcoma, endoteliosarcoma, linfangiosarcoma, tumor de Ewing, linfangioendoteliosarcoma, sinovioma, mesotelioma, leiomiomasarcoma, rabdomiosarcoma, carcinoma de colon, cáncer de páncreas, cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer de próstata, carcinoma de células escamosas, carcinoma de células basales, adenocarcinoma, carcinoma de glándulas sudoríparas, carcinoma de glándula sebácea, carcinoma papilar, adenocarcinomas papilares, cistoadenocarcinoma, carcinoma medular, carcinoma broncogénico, carcinoma de células renales, hepatoma, carcinoma del conducto biliar, coriocarcinoma, seminoma, carcinoma embrionario, tumor de Wilms, cáncer de cuello de útero, tumor testicular, carcinoma de pulmón, carcinoma de pulmón microcítico, carcinoma de vejiga, carcinoma epitelial, glioma, astrocitoma, meduloblastoma, craneofaringioma, ependimoma, pinealoma, hemangioblastoma, neuroma acústico, oligodendroglioma, meningioma, melanoma, neuroblastoma, retinoblastoma, leucemias, leucemia linfocítica aguda y leucemia mielocítica (mieloblástica, promielocítica, mielomonocítica, monocítica y eritroleucemia), leucemia crónica (leucemia mielocítica crónica (granulocítica) y leucemia linfocítica crónica), policitemia vera, linfoma (enfermedad de Hodgkin y enfermedad no de Hodgkin), mieloma múltiple, macroglobulinemia de Waldenstrom y enfermedad de la cadena pesada.

La resistencia de las células tumorales a los agentes quimioterapéuticos representa un problema importante en oncología clínica. En algunas realizaciones, las composiciones y los procedimientos de la presente invención proporcionan medios para mejorar este problema mediante la administración eficaz de un enfoque de tratamiento combinado. Sin embargo, se deberá observar que la terapia de combinación tradicional se puede utilizar junto con las composiciones de la presente invención. Por ejemplo, en algunas realizaciones de la presente invención, las inmunoterapias se utilizan antes, después, o junto con terapias tradicionales.

Para destruir células, inhibir el crecimiento celular o la metástasis, o la angiogénesis, o revertir o reducir de cualquier otra forma el fenotipo maligno de las células tumorales usando los procedimientos y composiciones de la presente invención en una terapia combinada, se pone en contacto una célula "diana" con las composiciones descritas en el presente documento y al menos otro agente. Estas composiciones se proporcionan en una cantidad eficaz combinada para destruir o inhibir la proliferación de la célula. Este procedimiento puede implicar poner en contacto las células con el agente inmunoterapéutico y el uno o más agentes o uno o más factores al mismo tiempo. Esto se puede conseguir poniendo en contacto la célula con una única composición o formulación farmacológica que incluye ambos agentes, o poniendo en contacto la célula con dos composiciones o formulaciones diferentes, al mismo tiempo.

Como alternativa, la inmunoterapia con las proteínas de fusión descritas en el presente documento precede o sigue al tratamiento con el otro agente en intervalos comprendidos entre minutos y semanas. En realizaciones donde el otro agente y la inmunoterapia se aplican independientemente a la célula, se debería garantizar de manera general que no transcurra un periodo de tiempo significativo entre el momento de cada administración, de forma que la proteína de fusión y el agente quimioterapéutico sigan pudiendo ejercer un efecto ventajosamente combinado en la célula. En

determinados casos, se contempla que las células entre en contacto con ambas modalidades en un plazo de aproximadamente 12-24 horas entre sí y, más preferentemente, en un plazo de aproximadamente 6-12 horas entre sí, siendo más preferido un retraso temporal de solo aproximadamente 12 horas. En algunas situaciones, puede ser deseable prolongar el período de tiempo del tratamiento de forma significativa, sin embargo, donde transcurren de varios días (2 a 7) a varias semanas (1 a 8) entre las respectivas administraciones.

En algunas realizaciones, se utiliza más de una administración de la composición inmunoterapéutica de la presente invención o del otro agente. Se pueden emplear varias combinaciones, donde la proteína de fusión es "A" y el otro agente es "B", como se ilustra a continuación:

A/B/A, B/A/B, B/B/A, A/A/B, B/A/A, A/B/B, B/B/B/A, B/B/A/B,
A/A/B/B, A/B/A/B, A/B/B/A, B/B/A/A, B/A/B/A, B/A/A/B, B/B/B/A,
A/A/A/B, B/A/A/A, A/B/A/A, A/A/B/A, A/B/B/B, B/A/B/B, B/B/A/B

Otras combinaciones se contemplan. De nuevo, para conseguir la destrucción celular, ambos agentes se administran a una célula en una cantidad combinada eficaz para destruir o desactivar la célula.

En algunas realizaciones de la invención, uno o más compuestos de la invención y un principio activo adicional se administran a un sujeto, de forma más típica un ser humano, en una secuencia y dentro de un intervalo de tiempo de tal forma que puedan actuar junto con el otro agente para proporcionar un beneficio potenciado con respecto a los beneficios obtenidos cuando se administran de otra forma. Por ejemplo, los principios activos adicionales se pueden coadministrar mediante coformulación, administrarse al mismo tiempo o administró secuencialmente en cualquier orden en puntos temporales diferentes; sin embargo, si no se administran al mismo tiempo, debería administrarse lo suficientemente cerca en el tiempo para proporcionar el efecto terapéutico o profiláctico deseado. En algunas realizaciones, el compuesto y los principios activos adicionales ejercen sus efectos en momentos temporales que se superponen. Cada principio activo adicional se puede administrar por separado, en cualquier forma adecuada o por cualquier vía adecuada. En otras realizaciones, el compuesto se administra antes, simultáneamente o después de la administración de los principios activos adicionales.

En diversos ejemplos, el compuesto y los principios activos adicionales se administran con menos de 1 hora de diferencia, con aproximadamente 1 hora de diferencia, de aproximadamente 1 hora a aproximadamente 2 horas de diferencia, de aproximadamente 2 horas a aproximadamente 3 horas de diferencia, de aproximadamente 3 horas a aproximadamente 4 horas de diferencia, de aproximadamente 4 horas a aproximadamente 5 horas de diferencia, de aproximadamente 5 horas a aproximadamente 6 horas de diferencia, de aproximadamente 6 horas a aproximadamente 7 horas de diferencia, de aproximadamente 7 horas a aproximadamente 8 horas de diferencia, de aproximadamente 8 horas a aproximadamente 9 horas de diferencia, de aproximadamente 9 horas a aproximadamente 10 horas de diferencia, de aproximadamente 10 horas a aproximadamente 11 horas de diferencia, de aproximadamente 11 horas a aproximadamente 12 horas de diferencia, no más de 24 horas de diferencia o no más de 48 horas de diferencia. En otros ejemplos, el compuesto y los principios activos adicionales se administran simultáneamente. En otros ejemplos más, el compuesto y los principios activos adicionales se administran simultáneamente mediante coformulación.

En otros ejemplos, el compuesto y los principios activos adicionales se administran de aproximadamente 2 a 4 días de separación, de aproximadamente 4 a 6 días de separación, con aproximadamente 1 semana de separación, de aproximadamente 1 a 2 semanas de separación, o con más de 2 semanas de separación.

En ciertos ejemplos, el compuesto de la invención y opcionalmente los principios activos adicionales se administran cíclicamente a un sujeto. Las terapias cíclicas implican la administración de un primer agente durante un periodo de tiempo, seguido por la administración de un segundo agente y/o un tercer agente durante un periodo de tiempo y repetir esta administración secuencial. La terapia cíclica puede proporcionar una variedad de beneficios, por ejemplo, reduce el desarrollo de resistencia a una o más de las terapias, evita o reduce los efectos secundarios de una o más de las terapias, y/o mejora la eficacia del tratamiento.

En otros ejemplos, uno o más compuestos de algunas realizaciones de la presente invención y, opcionalmente, el principio activo adicional se administran en un ciclo de menos de aproximadamente 3 semanas, aproximadamente una vez cada dos semanas, aproximadamente una vez cada 10 días o aproximadamente una vez a la semana. Un ciclo puede comprender la administración de un compuesto de la invención y, opcionalmente, del segundo principio activo mediante infusión durante aproximadamente 90 minutos cada ciclo, aproximadamente 1 hora cada ciclo, aproximadamente 45 minutos cada ciclo, aproximadamente 30 minutos cada ciclo o aproximadamente 15 minutos cada ciclo. Cada ciclo puede comprender al menos 1 semana de descanso, al menos 2 semanas de descanso, al menos 3 semanas de descanso. El número de ciclos administrado es de aproximadamente 1 a aproximadamente 12 ciclos, más típicamente de aproximadamente 2 a aproximadamente 10 ciclos y, más típicamente, de aproximadamente 2 a aproximadamente 8 ciclos.

Los cursos de tratamiento se pueden administrar simultáneamente a un sujeto, es decir, dosis individuales de los principios activos adicionales se administran por separado pero dentro de un intervalo de tiempo de tal forma que el compuesto de la invención puede trabajar junto con los principios activos adicionales. Por ejemplo, un componente se

puede administrar una vez a la semana junto con los otros componentes que se pueden administrar una vez cada dos semanas o una vez cada tres semanas. En otras palabras, los regímenes de dosificación se llevan a cabo simultáneamente incluso aunque si las terapias no se administran simultáneamente o en el mismo día.

Los principios activos adicionales pueden actuar de forma aditiva o, más típicamente, de forma sinérgica con el uno o más compuestos de la invención. En un ejemplo, uno o más compuestos de la invención se administran simultáneamente con uno o más segundos principios activos en la misma composición farmacéutica. En otro ejemplo, uno o más compuestos de la invención se administran concurrentemente con uno o más segundos principios activos en composiciones farmacéuticas separadas. En otro ejemplo más, uno o más compuestos de la invención se administran antes o después de administrar un segundo principio activo. La invención contempla la administración de un compuesto de la invención y un segundo principio activo mediante vías de administración iguales o diferentes, por ejemplo, oral y parenteral. En determinadas realizaciones, cuando el compuesto de la invención se administran concurrentemente con un segundo principio activo que potencialmente produce efectos secundarios adversos que incluyen, aunque no de forma limitativa, toxicidad, el segundo principio activo se puede administrar ventajosamente a una dosis que está por debajo del umbral en el que se dispara dicho efecto secundario adverso.

Otros factores que se pueden usar en la terapia de combinación incluyen, aunque no de forma limitativa, factores que producen daños en el ADN tales como rayos γ , rayos X y/o, la administración directa de radioisótopos a las células tumorales. También se contemplan otras formas de factores que producen daños en el ADN, tales como las microondas y la irradiación UV. Los intervalos de dosificación para los rayos X están comprendidos en dosis diarias de 50 a 200 roentgen para periodos de tiempo prolongados (3 a 4 semanas), a dosis únicas de 2000 a 6000 roentgen. Los intervalos de dosificación de los radioisótopos varían ampliamente, y dependen de la semivida del isótopo, la fuerza y tipo de la radiación emitida, y de su captación por las células neoplásicas. El experto en la materia se dirige a "Remington's Pharmaceutical Sciences" 15ª Edición, capítulo 33, en particular las páginas 624-652. Se producirá necesariamente alguna variación en la dosificación dependiendo de la dolencia del sujeto que se está tratando. La persona responsable de la administración determinará, en cualquier caso, la dosis adecuada para el sujeto individual. Por otra parte, para la administración a seres humanos, las preparaciones deben cumplir los estándares de esterilidad, pirogenicidad, seguridad general y pureza exigidos por la FDA Office of Biologics Standards.

En algunas realizaciones de la presente invención, la administración regional de proteínas de fusión a pacientes con cáncer se utiliza para maximizar la eficacia terapéutica del agente administrado. Análogamente, la quimioterapia o la radioterapia se puede dirigir a una región afectada concreta del cuerpo del sujeto. Como alternativa, la administración sistémica de la composición inmunoterapéutica y/o del agente puede ser apropiada en determinadas circunstancias, por ejemplo, cuando se ha producido una metástasis extensa.

Además de combinar las proteínas de fusión de algunas realizaciones de la presente invención con quimioterapias y radioterapias, también se contempla el uso de terapias génicas tradicionales. Por ejemplo, el direccionamiento a mutaciones p53 o p16, junto con el tratamiento con las proteínas de fusión de la presente invención proporciona un tratamiento contra el cáncer mejorado. La presente invención contempla el tratamiento simultáneo de otros genes relacionados con el tumor entre los que se incluyen, aunque no de forma limitativa, p21, Rb, APC, DCC, NF-1, NF-2, BCRA2, p16, FHIT, WT-1, MEN-1, MEN-2, BRCA1, VHL, FCC, MCC, ras, myc, neu, raf erb, src, fms, jun, trk, ret, gsp, hst, bcl y abl.

Un rasgo atractivo de la presente invención es que las composiciones terapéuticas se pueden administrar a sitios locales de un paciente con un dispositivo médico. Los dispositivos médicos que son adecuadas para su uso en la presente invención incluyen dispositivos adecuados para la administración localizada de los agentes terapéuticos. Dichos dispositivos incluyen, aunque no de forma limitativa, catéteres tales como catéteres de inyección, catéteres de globo, catéteres de doble globo, catéteres de globo microporoso, catéteres de canal con globo, catéteres de infusión, catéteres de perfusión, etc., que, por ejemplo, están revestidos con los agentes terapéuticos o a través de los cuales se administran los agentes terapéuticos; dispositivos de inyección con aguja tales como agujas hipodérmicas y catéteres de inyección con aguja; dispositivos de inyección sin aguja tales como inyector de choro; endoprótesis vasculares revestidas, endoprótesis vasculares bifurcadas, injertos vasculares, injertos de endoprótesis vasculares, etc.; y dispositivos vasooclusivos revestidos tales como espirales de alambre.

Los dispositivos ilustrativos se describen en las patentes de Estados Unidos número 5.935.114; 5.908.413; 5.792.105; 5.693.014; 5.674.192; 5.876.445; 5.913.894; 5.868.719; 5.851.228; 5.843.089; 5.800.519; 5.800.508; 5.800.391; 5.354.308; 5.755.722; 5.733.303; 5.866.561; 5.857.998; 5.843.003; y 5.933.145. Las endoprótesis vasculares ilustrativas que están disponibles comercialmente y se pueden usar en la presente solicitud incluyen la RADIUS (SCIMED LIFE SYSTEMS, Inc.), la SYMPHONY (Boston Scientific Corporation), la Wallstent (Schneider Inc.), la PRECEDENT II (Boston Scientific Corporation) y la NIR (Medinol Inc.). Dichos dispositivos se administran y/o se implantan en las ubicaciones diana dentro del organismo con técnicas conocidas.

En algunas realizaciones, las realizaciones de composiciones de la presente invención se coadministran junto con un antineoplásico (por ejemplo, una quimioterapia). En algunas realizaciones, las realizaciones de los procedimientos de la presente invención abarcan la coadministración de un agente antineoplásico (por ejemplo, una quimioterapia). La presente invención no está limitada por el tipo de agente antineoplásico coadministrado. De hecho, se contempla una variedad de agentes antineoplásicos de utilidad en la presente invención entre los que se incluyen, aunque no de

forma limitativa, Acivicina; Aclarrubicina; Clorhidrato de acodazol; Acronina; Adozelesina; Adriamicina; Aldesleuquina; Alitretinoina; Alopurinol sodio; Altretamina; Ambomicina; Acetato de ametantrona; Aminoglutetimida; Amsacrina; Anastrozol; Acetogeninas de anonáceas; Antramicina; Asimicina; Asparaginasa; Asperlina; Azacitidina; Azetepa; Azotomicina; Batimastat; Benzodepa; Bexaroteno; Bicalutamida; Clorhidrato de bisantreno; Dimesilato de bisnafida; Bizelesina; Sulfato de bleomicina; Brequinar sódico; Bropirimina; Bulatacina; Busulfán; Cabergolina; Cactinomicina; Calusterona; Caracemide; Carbetimer; Carboplatino; Carmustina; Clorhidrato de carrubicina; Carzelesina; Cedefingol; Celecoxib; Clorambucilo; Cirolemicina; Cisplatino; Cladribina; Mesilato de crisnatol; Ciclofosfamida; Citarabina; Dacarbazina; DACA (N-[2-(dimetilamino)etil] acridina-4-carboxamida); Dactinomicina; Clorhidrato de daunorrubicina; Daunomicina; Decitabina; Denileuquina Diftitox; Dexormaplatino; Dezaguanina; Mesilato de dezaguanina; Diazicuona; Docetaxel; Doxorubicina; Clorhidrato de doxorubicina; Droloxifeno; Citrato de droloxifeno; Propionato de dromostanolona; Duazomicina; Edatrexato; Clorhidrato de eflornitina; Elsamitrucina; Enloplatino; Enpromato; Epiropropidina; Clorhidrato de epirubicina; Erbulozol; Clorhidrato de esorubicina; Estramustina; Estramustina fosfato de sodio; Etanidazol; Aceite etiodizado I 131; Etopósido; Fosfato de etopósido; Etoprina; Clorhidrato de fadrozol; Fazarabina; Fenretinida; Floxuridina; Fosfato de fludarabina; Fluorouracilo; 5-FdUMP; Fluorocitabina; Fosquidona; Fostriecina sódica; FK-317; FK-973; FR-66979; FR-900482; Gemcitabina; Clorhidrato de gemcitabina; Gemtuzumab; Ozogamicina; Oro Au 198; Acetato de goserelina; Guanacona; Hidroxiurea; Clorhidrato de idarrubicina; Ifosfamida; Ilmofosina; Interferón Alfa-2a; Interferón Alfa-2b; Interferón Alfa-nl; Interferón Alfa-n3; Interferón Beta-la; Interferón Gamma-lb; Iproplatino; Clorhidrato de irinotecán; Acetato de lanreotida; Letrozol; Acetato de leuprólido; Clorhidrato de liarozol; Lometrexol sódico; Lomustina; Clorhidrato de losoxantrona; Masoprocol; Maitansina; Clorhidrato de mecloretamina; Acetato de megestrol; Acetato de melengestrol; Melfalán; Menogaril; Mercaptopurina; Metotrexato; Metotrexato sódico; Metoxsalen; Metoprina; Metureda; Mitindomida; Mitocarcina; Mitocromina; Mitogilina; Mitomalcina; Mitomicina; Mitomicina C; Mitosper; Mitotano; Clorhidrato de mitoxantrona; Ácido micofenólico; Nocodazol; Nogalamicina; Oprelvequina; Ormaplatino; Oxisurano; Paclitaxel; Pamidronato disódico; Pegaspargasa; Peliomicina; Pentamustina; Sulfato de peplomicina; Perfosfamida; Pipobromano; Puposulfano; Clorhidrato de piroxantrona; Plicamicina; Plomestano; Porfímero sódico; Porfiromicina; Prednimustina; Clorhidrato de procarbazona; Puomicina; Clorhidrato de puomicina; Pirazofurina; Riboprina; Rituximab; Rogletimida; Roliniastatina; Safingol; Clorhidrato de safingol; Samario/Lexidronam; Semustina; Simtrazeno; Esparfosato sódico; Esparsomicina; Clorhidrato de espirogermanio; Espiromustina; Espiropatino; Escuamocina; Escuamotacina; Estreptonigrina; Estreptozocina; Clorhidrato de estroncio Sr 89; Sulofenur; Talisomicina; Taxano; Taxoide; Tecogalan sódico; Tegafur; Clorhidrato de teloxantrona; Temoporfina; Tenipósido; Teroxirona; Testolactona; Tiamiprina; Tioguanina; Tiotepa; Timitaq; Tiazofurina; Tirapazamina; Tomudex; TOP-53; Clorhidrato de topotecán; Citrato de toremifeno; Trastuzumab; Acetato de trestolona; Fosfato de triciribina; Trimetrexato; Trimetrexato glucuronato; Triptorelina; Clorhidrato de tubulozol; Mostaza de uracilo; Uredepa; Valrubicina; Vapreotida; Verteporfina; Vinblastina; Sulfato de vinblastina; Vincristina; Sulfato de vincristina; Vindesina; Sulfato de vindesina; Sulfato de vinepidina; Sulfato de vinglicinato; Sulfato de vinleurosina; Tartrato de vinorelbina; Sulfato de vinrosidina; Sulfato de vinzolidina; Vorozol; Zeniplatino; Zinostatina; Clorhidrato de zorrubicina; 2-Clorodesoxiadenosina; 2'-Desoxifurformicina; 9-aminocamptotecina; raltitrexed; Ácido N-propargil-5,8-dideazafólico; 2-cloro-2'-arabino-fluoro-2'-desoxiadenosina; 2-cloro-2'-desoxiadenosina; anisomicina; tricostatina A; hPRL-G129R; CEP-751; linomida; mostaza de azufre; mostaza de nitrógeno (mecloretamina); ciclofosfamida; melfalán; clorambucilo; ifosfamida; busulfán; N-metil-N-nitrosourea (MNU); N, N'-Bis(2-cloroetil)-N-nitrosourea (BCNU); N-(2-cloroetil)-N'-ciclohexil-N-nitrosourea (CCNU); N-(2-cloroetil)-N'-(trans-4-metilciclohexil)-N-nitrosourea (MeCCNU); N-(2-cloroetil)-N'-(dietil)etilfosfonato-N-nitrosourea (fotemustina); estreptozotocina; diacarbazona (DTIC); mitozolomida; temozolomida; tiotepa; mitomicina C; AZQ; adozelesina; Cisplatino; Carboplatino; Ormaplatino; Oxaliplatino; C1-973; DWA 2114R; JM216; JM335; Bis(platino); tomudex; azacitidina; citarabina; gemcitabina; 6-Mercaptopurina; 6-Tioguanina; Hipoxantina; tenipósido; 9-amino camptotecina; Topotecán; CPT-11; Doxorubicina; Daunomicina; Epirubicina; darrubicina; mitoxantrona; losoxantrona; Dactinomicina (Actinomicina D); amsacrina; pirazoloacridina; retinol todo trans; 14-hidroxi-retro-retinol; ácido retinoico todo trans; N-(4-Hidroxifenil) retinamida; ácido retinoico 13-cis; 3-Metil TTNEB; ácido retinoico 9-cis; fludarabina (2-F-ara-AMP); y 2-clorodesoxiadenosina (2-Cda).

Otros agentes antineoplásicos incluyen: agentes antiproliferativos (por ejemplo, Piritrexim Isotuinato), Agente contra la hipertrofia protática (por ejemplo, Sitoglusida), Agentes terapéuticos contra la hipertrofia prostática benigna (por ejemplo, clorhidrato de tamsulosina), agentes inhibidores del crecimiento prostático (por ejemplo, Pentomona), y agentes radioactivos: Fibrinógeno I 125; Fludesoxiglucosa F 18; Fluorodopa F 18; Insulina I 125; Insulina I 131; Yobenguano I 123; Yodipamida sódico I 131; Yodoantipirina I 131; Yodocolesterol I 131; Yodohipurato sódico I 123; Yodohipurato sódico I 125; Yodohipurato sódico I 131; Yodopiracet I 125; Yodopiracet I 131; Clorhidrato de yofetamina I 123; Yometina I 125; Yometina I 131; Yotalamato sódico I 125; Yotirosina I 131; Liotironina I 125; Liotironina I 131; Acetato de merisoprol Hg 197; Acetato de merisoprol Hg 203; Merisoprol Hg 197; Selenometionina Se 75; Tecnecio Tc 99m Coloide de trisulfuro de antimonio; Tecnecio Tc 99m Bicisato; Tecnecio Tc 99m Disofenina; Tecnecio Tc 99m Etidronato; Tecnecio Tc 99m Exametazima; Tecnecio Tc 99m Furifosmina; Tecnecio Tc 99m Gluceptato; Tecnecio Tc 99m Lidofenina; Tecnecio Tc 99m Mebrofenina; Tecnecio Tc 99m Medronato; Tecnecio Tc 99m Medronato disódico; Tecnecio Tc 99m Mertiatida; Tecnecio Tc 99m Oxidronato; Tecnecio Tc 99m Pentetato; Tecnecio Tc 99m Pentetato alcio triódico; Tecnecio Tc 99m Sestamibi; Tecnecio Tc 99m Siboroxima; Tecnecio Tc 99m Succimer; Tecnecio Tc 99m Coloide de azufre; Tecnecio Tc 99m Teboroxima; Tecnecio Tc 99m Tetrafosmina; Tecnecio Tc 99m Tiatida; Tiroxina I 125; Tiroxina I 131; Tolpovidona I 131; Trioleína I 125; Trioleína I 131.

Otra categoría de agentes antineoplásicos son los agentes potenciadores suplementarios, que incluyen: fármacos antidepresivos tricíclicos (por ejemplo, imipramina, desipramina, amitriptilina, clomipramina, trimipramina, doxepina, nortriptilina, protriptilina, amoxapina y maprotilina); fármacos antidepresivos no tricíclicos (por ejemplo, sertralina, trazodona y citalopram); antagonistas del Ca^{++} (por ejemplo, verapamilo, nifedipina, nitrendipina y caroverina); inhibidores de calmodulina (por ejemplo, prenilamina, trifluoroperazina y d clomipramina); Anfotericina B; análogos de triparanol (por ejemplo, tamoxifeno); fármacos antiarrítmicos (por ejemplo, quinidina); fármacos antihipertensivos (por ejemplo, reserpina); secuestrante de tiol (por ejemplo, butionina y sulfoximina) y agentes reductores de la resistencia multifármaco tales como Cremaphor EL.

Otros agentes antineoplásicos adicionales son los seleccionados entre el grupo que consiste en: acetogeninas de anonáceas; asimicina; roliniastatina; guanacina, escuamocina, bulatacina; escuamotacina; taxanos; paclitaxel; gemcitabina; metotrexato FR-900482; FK-973; FR-66979; FK-317; 5-FU; FUDR; FdUMP; Hidroxiurea; Docetaxel; discodermolide; epotilonas; vincristina; vinblastina; vinorelbina; meta-pac; irinotecán; SN-38; 10-OH campto; topotecán; etopósido; adriamicina; flavopiridol; Cis-Pt; carbo-Pt; bleomicina; mitomicina C; mitramicina; capecitabina; citarabina; 2-Cl-2'-desoxiadenosina; Fludarabina-PO4; mitoxantrona; mitozolomida; Pentostatina; y Tomudex.

Otras terapias contra el cáncer incluyen la manipulación hormonal. En algunas realizaciones, el agente antineoplásico es tamoxifeno o el inhibidor de aromatasas arimidax (es decir, anastrozol).

En algunas realizaciones, el agente adicional es Mitomicina C.

En algunas realizaciones, las terapias describen en el presente documento se utilizan junto con otras inmunoterapias (por ejemplo, CAR-T/TCR y/o inhibidores del punto de control).

Sección experimental

Se proporcionan los siguientes ejemplos para demostrar e ilustrar adicionalmente determinadas realizaciones y aspectos preferidos de la presente invención.

Ejemplo 1 - generación de nanocuerpos y construcciones

Reactivos, ratones y líneas celulares. IL-15 (rIL-15) recombinante humana, IL-2 (rhIL-2) humana, IL-4 (rmIL-4) murina e interferón gamma murino (rmlFNg) se adquirieron de Peprotech Inc (Rocky Hill, N.J.). La línea de células CTLL-2 dependiente de IL-2 (American Type Culture Collection, ATCC) se mantuvo en medio RPMI1640 que contenía FCS al 10%, glutamina 2 mM, rhIL-2 10 ng/ml.

Los ratones C57B16 se obtuvieron de Taconic (Taconic Farms, Rye, Dinamarca) y se reprodujeron en el centro en una instalación exenta de patógenos específicos (SPF). El estímulo tumoral se realizó mediante inyección s.c., con 2x10⁵ células de melanoma B16 (ATCC).

La línea de células CHO (ATCC) se usó para generar células que expresaban el receptor de manosa murino o humano (MRC1; CD206). Se generaron transfectantes estables mediante electroporación de las células con un plásmido pCDNA3.1 que contenía el ADNc relevante (sintetizado por Genscript). Las células que expresaban MRC1 se seleccionaron mediante clasificación de flujo de células con tinción positiva usando un anticuerpo anti-MRC1.

Se usaron células de hibridoma NS0 (Sigma Aldrich) para generar células que expresaban FOLR2 de humano/ratón. Las células se transdujeron con vectores pMSCV IRES GFP que expresaban ADNc contenido que codificaba el receptor relevante (obtenido de OriGene). Las células transducidas de forma estable se seleccionaron mediante clasificación de flujo de células con tinción positiva GFP+ usando un mAb anti-FOLR2. Todas las células se mantuvieron en medio RPMI1640 que contenía FBS al 10%.

La cepa Rv308 de Escherichia coli de producción se obtuvo de la ATCC.

Generación de sdAbs anti-MRC1. Para la generación de una fagoteca con reactividad cruzada humano/ratón, una llama (Llama glama) se inmunizó s.c. con dosis alternativas de MRC1 recombinante de ser humano y de ratón (R&D Systems) en adyuvante GERBU con intervalos de 7 días para un total de 6 semanas. Las dos inmunizaciones totales utilizaron 200 µg de MRC1, mientras que las dosis posteriores fueron de 100 µg cada una. Tras completar el programa de inmunización, el ARN total se aisló de linfocitos de sangre periférica. La construcción de una biblioteca de VHH y la posterior purificación por adsorción biológica y secuenciación avanzada se realizó por un proveedor de servicio comercial (Creative Biolabs, Shirley, NY). En resumen, El ADNc se generó usando un kit AMV Super Reverse Transcriptase (HT Biotechnology Ltd, Cambridge, Reino Unido) de acuerdo con las instrucciones del fabricante, usando cebadores Oligo(dT). Secuencias de VHH amplificadas se insertaron en el vector fagémido pCDisplay-3M (Creative Biolabs), y se electroporaron en células E. coli TG1. Los transformantes se infectaron con fagos auxiliares M13K01 (New England Biolabs) para generar fagos que expresaban VHH. La purificación por adsorción biológica de fagos se realizó usando MRC1 recombinante humano y de ratón (R&D systems). Después de 4 cuatro ciclos de sucesivos de purificación por adsorción biológica, el ADN de la fagoteca enriquecida se sometió a secuenciación avanzada para puntuar los clones enriquecidos usando el paquete de software bioinformático VectorNTI (Thermo Scientific). Las secuencias más intensamente enriquecidas fueron las representadas por las SEQ ID NO:30-56. Los

principales candidatos se optimizaron por codón para su expresión en *E. coli* (secuencias de aminoácidos y de ácidos nucleicos proporcionadas como las SEQ ID NO:57-108), y los fragmentos sintetizados se insertaron en dirección 3' de la señal PelB del vector de expresión pHOG21. Los sdAb monovalentes candidatos que contenían una etiqueta cMyc/6xHis en el extremo se expresaron y purificaron como se especifica a continuación, y la unión a células CHO que expresaban MRC1 se comprobó mediante citometría de flujo, con tinción usando un anticuerpo anti-His conjugado con PE.

Generación de sdAbs anti-FOLR2. La inmunización de las llamas se realizó como se ha descrito para los anticuerpos anti-MRC1, usando FOLR2 recombinante humano y de ratón (R&D systems). Tras completar el programa de inmunización, el ARN total se aisló de linfocitos de sangre periférica y el ADNc se sintetizó usando el kit de síntesis de ADNc First Stand (Thermo Scientific), usando cebadores oligo(dT), de acuerdo con el protocolo del proveedor. Las secuencias de VHH se amplificaron en un enfoque de dos etapas, basándose en un protocolo anteriormente publicado. En resumen, los VHHs se amplificaron usando cebadores CALL001 (5'-GTCCTGGCTGCTCTTCTACAAGG-3'; SEQ ID NO:148) y CALL002 (5'-GGTACGTGCTGTTGAAGTGTCC-3'; SEQ ID NO: 149), específicos de la secuencia líder de VHH y del exón CH2, respectivamente. La mezcla de la PCR se separó en geles de agarosa al 1 %, y los fragmentos de VHH de 700 pb se extrajeron y se sometieron a PCR usando cebadores anidados VHH-Back (5'-GATGTGCAGCTGCAGGAGTCTGGRGGAGG-3'; SEQ ID NO: 150; sitio de corte con PstI subrayado) y VHH-For: (5'-CTAGTGCAGCGCCGCTGGAGACGGTGACCTGGGT-3'; SEQ ID NO: 151; sitio de Eco91I subrayado), específicos de las regiones marco 1 y marco 4, respectivamente. Los fragmentos de la PCR se cortaron usando las enzimas de restricción PstI/Eco91I y se ligaron en los sitios correspondientes del vector fagémido pMESY4. El vector ligado se electroporó en células *E. coli* SS320 y se sembraron en placas LB que contenían 100 µg/ml de ampicilina. Las células se recogieron mediante rascado y se almacenaron a -80 °C en medio LB con glicerol al 50 %. Para la producción de fagos, las células se infectaron con fagos auxiliares VSCM13 (n.º de cat. 200251; Stratagene). Los fagos específicos de FOLR2 se enriquecieron mediante tres ciclos consecutivos de selección celular *in vitro*. La selección negativa se llevó a cabo mediante una combinación de purificación por adsorción molecular y celular. Para la purificación por adsorción celular, los fagos se incubaron con 50x10⁶ NS0 células para selección negativa, con posterior selección positiva y elución de las partículas unidas desde células NS0 que expresaban FOLR2 humano o de ratón. Los clones individuales se cribaron mediante citometría de flujo según la unión selectiva a células que expresaban FOLR2 en exceso. Las secuencias de VHH de los aglutinantes se optimizaron según el codón para su expresión en *E. coli*, y se expresaron en solitario o fusionadas a ligandos de citoquina como se especifica a continuación.

Generación de sdAbs anti-LGMN. La inmunización de las llamas y la posterior construcción de la biblioteca se llevó a cabo como se ha descrito para FOLR2, usando dominios extracelulares recombinantes de legumain humanos y murinos como inmunógenos, con idénticas dosis/intervalos de inmunización. Se construyó una biblioteca de sdAb mediante síntesis del ADNc usando ARN extraído de los PBMC recogidos al finalizar el protocolos de inmunización. La biblioteca se generó en el vector fagémido pMESY4.

Generación de proteínas de fusión sdAb/citoquina. Las secuencias de nucleótidos que codifican proteínas de fusión se optimizaron según el codón para su expresión en *E. coli* y se generaron mediante síntesis génica para su inserción en el sitio NcoI/NotI del vector de expresión pHOG21, en dirección 3' de la secuencia líder PelB. Una etiqueta cMyc/6xHis en 3' del sitio MCS se utilizó para generar variantes marcadas de las proteínas de fusión. Los fragmentos relevantes de sdAb o scFv se fusionaron con restos de citoquina usando la bisagra de IgG2 de llama (AHHSEDPSSKAPKAPMA; SEQ ID NO: 109) o un enlazador flexible (G₄S)₃ (GGGGSGGGSGGGGS; SEQ ID NO: 110). La selección del enlazador no parece alterar el rendimiento de la proteína ni la actividad biológica de la proteína de fusión.

Expresión y purificación de proteínas en *E. coli*. Células *E. coli* (RV308) (ATCC) se transformaron con los plásmidos pHOG21 anteriormente descritos y se hicieron crecer colonias individuales en una placa de agar con rayas recién trazadas en medio LB que contenía 100 µg/ml de ampicilina y glucosa 100 mM a 37 °C durante 7 h. El inóculo precultivado se transfirió a 100 ml de medio mínimo y se cultivó ON a 30 °C. Los cultivos ON se usaron para inocular un biorreactor que contenía 4 l de medio mínimo. La fermentación se realizó a 20-30 °C usando control O₂-stat, y la alimentación con glucosa se inició tras completar la fase discontinua, lo que se marcó por un rápido aumento en los niveles de O₂ disuelto. La producción de proteínas se indujo mediante una inyección de IPTG hasta una concentración final de 1 mM, y las bacterias se recogieron por centrifugación a 50000 x g 6 h después de la inducción. Para la extracción de la fracción periplásmica, los aglomerados bacterianos se disolvieron en tampón de extracción periplásmica, se agitaron a temperatura ambiente durante 10 min y se aglomeraron mediante centrifugación a 14 000 x g. Los residuos se disolvieron en agua destilada fría, se incubaron a 4 °C durante 10 minutos y se centrifugaron a 17 000 x g durante 30 minutos. El sobrenadante se filtró, y se añadieron imidazol (conc. final 30 mM) y NaCl (conc. final 500 mM).

Todas las proteínas se purificaron usando cromatografía de afinidad de metal inmovilizado (IMAC) usando columnas HiTrap IMAC HP (GE Healthcare), seguido por cromatografía de intercambio catiónico (CEX) en columnas HiTrap Capto SP ImpRes previamente empaquetadas (GE Healthcare) para eliminar la endotoxina. Los niveles de endotoxina se determinaron utilizando un LAL Chromogenic Endotoxin Quantitation Kit (Thermo Scientific). Para las proteínas utilizadas en ensayos funcionales, se llevó a cabo una etapa de afinado final mediante cromatografía de exclusión molecular (SEC) usando columnas Superdex 75 10/300 GL (GE Healthcare) en solución salina tamponada con fosfato exenta de endotoxina pH 7,4 (PBS).

Las proteínas se transfirieron a una membrana P Immobilon (Millipore Corporation, Bedford, Estados Unidos) para inmunotransferencia. Tras bloquear la membrana con solución salina tamponada con fosfato que contenía Tween20 al 0,2 % (PBS-Tween) y leche desnatada al 1 %, el anticuerpo primario relevante se añadió y se incubó durante 2 horas a temperatura ambiente. Después del lavado, se añadió un anticuerpo secundario marcado con HRP, seguido por 1 hora de incubación. La membrana se lavó varias veces con tampón PBS-Tween antes de visualizar la actividad peroxidasa mediante adición de sustrato quimioluminiscente SuperSignal West Pico (Thermo Scientific).

Ensayos de proliferación de linfocitos T *in vitro*. Para evaluar el efecto biológico de las proteínas de fusión sdAb IL2/IL15 *in vitro*, los inventores utilizaron un hibridoma de linfocitos T dependiente de IL2, CTLL-2 (ATCC). Las células CTLL-2 se mantuvieron en medio RPMI1640 con rhIL-2. Antes de usarse, las células se lavaron y se privaron de alimento mediante 24 h de incubación en medio RPMI sin rhIL-2. Las proteínas de fusión candidatas se añadieron a las células en placas de 96 pocillos, y se incubaron durante 48 h, con adición de 3H-timidina durante las últimas 18 h de cultivo. Las células se recogieron y se midieron usando un contador de centelleo TopCount (PerkinElmer, Waltham, MA).

Las células se recogieron sobre papel de nitrocelulosa, y las cuentas por minuto (cpm) se determinaron usando un contador de centelleo (PerkinElmer). Se usó rhIL-2 o rhIL-15 para generar una referencia del fomento del crecimiento.

Citometría de flujo

La unión de las proteínas de fusión sdAb/citoquina se evaluó mediante citometría de flujo, exponiendo las células a la proteína de fusión relevante, seguido por tinción con anticuerpos reactivos contra el resto de citoquina o la etiqueta 6xHis.

Expresión y evaluación funcional de la proteína de fusión 206Nb-RLI. Para evaluar la posibilidad de generar las proteínas de fusión sdAb/citoquina, los inventores utilizaron construcciones optimizadas por codón que abarcaban el fragmento scFv de un sdAb específico de MRC1 previamente caracterizado descrito en la solicitud de patente estadounidense US20120301394 (clon 1; denominado a partir de ahora en el presente documento como 206Nb). El fragmento 206Nb (SEQ ID NO: 111 y 112) se unió mediante una bisagra de IgG2 de llama (SEQ ID NO: 112 y 113) a una secuencia que codificaba el receptor IL15 de la proteína de fusión sushi/hIL15 (IL15RLI; SEQ ID 6, 7). La construcción resultante, denominada como 206Nb-RLI (SEQ ID NO: 1 y 2), se insertó en dirección 3' de la secuencia de señalización PelB (MKSLLPTAAAGLLLLAAQPA; SEQ ID NO:152) del vector de expresión pHOG21, y la construcción se electroporó en células RV380.

Después de la expresión periplásmica inducida por IPTG a 30 °C, la proteína se aisló mediante cromatografía de afinidad usando una columna anti-IL15 conjugada con sefarosa, seguido de CEX. La proteína resultante se presentó como un monómero del tamaño esperado de aprox. 40 kDa, y se detectó mediante transferencia Western usando un mAB anti-IL15 (n.º MAB2471; R&D systems) (Fig. 4, hilera 2).

La unión a células CHO que expresaban MRC1 (CHO-MR) se comprobó mediante citometría de flujo, usando un anticuerpo anti-IL15 conjugado con APC (n.º IC2471A; R&D Systems) para la detección (Fig. 5). La funcionalidad de la unidad IL15RLI se confirmó en un ensayo de proliferación de CTLL-2 (Fig. 6).

También se produjo una versión de la proteína de fusión que contenía una etiqueta cMyc/6xHis en el extremo C, que se aisló mediante IMAC/CEX. La transferencia Western usando un mAB anti-CMyc (9E10; Abcam) confirmó una sola banda del tamaño esperado (no se muestran los datos). Los ensayos con CTLL-2 confirmaron una capacidad proliferativa comparable al de la variante sin etiquetar (no se muestran los datos).

Expresión y evaluación funcional de la proteína de fusión 206Nb-hIL15. 206Nb se fusionó a una secuencia que codificaba IL15 humana (SEQ ID NO:116 y 117), unida mediante una bisagra de IgG2 de llama (SEQ ID NO:109) y una etiqueta cMyc/6xHis en el extremo C. La secuencia de la proteína de fusión 206Nb-hIL15 se proporciona como la SEQ ID NO:138. La producción se realizó tal como se ha descrito para 206RLI. Después de la purificación con IMAC/CEX, se observó una única banda del tamaño esperado (aprox. 30 kDa), detectable en transferencias Western usando un mAB anti-IL15 (no se muestran los datos). La función inductora de la proliferación de la proteína de fusión fue superior a la de rhIL15 cuando se usó en los ensayos de CTLL-2 (Fig. 7). La citometría de flujo confirmó la unión a células CHO que expresaban mMRC1, con detectan usando anticuerpos dirigidos contra IL15 o la etiqueta 6xHis.

Expresión y evaluación funcional de la proteína de fusión a 206Nb-hIL2. 206Nb se fusionó a una secuencia que codificaba IL2 humana (SEQ ID NO: 118 y 119), unida mediante una bisagra de IgG2 de llama (SEQ ID NO:109) y una etiqueta cMyc/6xHis en el extremo C. Se llevó a cabo la producción como se ha descrito anteriormente. Después de la purificación con IMAC/CEX, se observó una única banda del tamaño esperado (aprox. 33 kDa), detectable en transferencias Western usando un mAB anti-2 (Fig. 8, hilera 3). La proteína mostró intensos efectos inductores de la proliferación, superando los de rhIL2 en los ensayos de CTLL-2 (Fig. 9). La citometría de flujo confirmó la unión a células CHO que expresaban mMRC1, con detectan usando anticuerpos dirigidos contra IL2 o la etiqueta 6xHis.

Expresión y evaluación funcional de la proteína de fusión a CL10scFv-IL15RLI. Los inventores querían explorar a continuación el potencial para extender el direccionamiento de macrófagos a las proteínas de fusión que contenían unidades de direccionamiento scFv. Una construcción optimizada por codón que abarcaba el fragmento scFv del mAB CL10 de rata dirigido contra FOLR2 de ratón (SEQ ID NO:120 y 121; obtenido de las solicitudes de patente

estadounidenses US20140010756), con fragmentos VH y VL conectados mediante un enlazador (G₄S)₃, se fusionó a IL15RLI (SEQ ID NO: 114 y 115), que contenía una etiqueta cMyc/6xHis en el extremo C, mediante un enlazador (G₄S)₃ y se insertó en el vector pHOG en dirección 3' del péptido de señalización PelB. La expresión de la proteína se indujo mediante inducción ON con IPTG 1 mM a 25 °C, y la purificación se realizó con IMAC/CEX. La proteína purificada (tamaño aprox 55kDa; Fig. 10, hileras 6-7) mostró la unión a células NS0 que expresan mFOLR2 por citometría de flujo, detectadas usando un anticuerpo anti-IL15 o anti-6xHis (Fig. 11). La funcionalidad de la unidad IL15RLI se comprobó en un ensayo de CTLL-2.

Unión de 206Nb-RLI a macrófagos polarizados con M2 *in vitro*. Para determinar la capacidad de la proteína 206Nb-RLI para unirse a macrófagos de polarización diferente, se cultivaron BMDM d+7 durante 24 h en presencia de rmlL-4 (10 ng/ml) o rmlFNγ (100 ng/ml), conocido por inducir un fenotipo M2 o M1, respectivamente. La citometría de flujo con tinción usando la proteína 206Nb-RLI dio como resultado una tinción preferente de los macrófagos del tipo M2 tratados con IL-4 (Fig. 12).

Expresión y evaluación funcional de una proteína de fusión FOLR2sdAb-RLI. La purificación mediante adsorción biológica de la biblioteca de sdAb FOLR2 condujo a la identificación de un clon fuertemente enriquecido (SEQ ID NO:122) que se optimizó por codones (SEQ ID NO:123) y se fusionó mediante un enlazador (G₄S)₃ a IL15RLI (SEQ ID NO: 114 y 115). La secuencia de la construcción completa se proporciona como SEQ ID NO:141. La proteína se expresó en pHOG21 con una etiqueta cMyc/6xHis en el extremo C.

Unión *in vitro* de FOLR2sdAb-RLI a macrófagos asociados a tumores. Para evaluar la unión de la proteína FOLR2sdAb-RLI a macrófagos tumorales fisiológicamente diferenciados, se realizaron análisis de citometría de flujo sobre suspensiones de células individuales preparadas a partir de tumores B16 establecidos. Se descubrió que la población de CD11b+ residente en el tumor consistía principalmente de células Ly6GHiLy6Clo, que mostraban una unión preferente a FOLR2-RLI en comparación con la fracción Ly6GNegLy6CNeg y las células CD11bNeg (Fig. 13), consistente con la reactividad de la proteína de fusión frente a los macrófagos asociados a tumores.

Ejemplo 2 - experimentos con animales

Se usaron modelos murinos clínicamente relevantes y bien establecidos de diversas neoplasias para evaluar la eficacia del tratamiento con 206RLI. Los autores seleccionaron un panel de cribado de tipos de cáncer conocidos por tener un alto grado de infiltración de macrófagos, y que representa grupo de pacientes con opciones terapéuticas limitadas actualmente. Esto incluye cáncer de pulmón, cáncer de mama, cáncer de páncreas, cáncer de próstata, melanoma y mieloma múltiple. Las líneas celulares utilizadas son muy utilizadas y están bien caracterizadas, producen tumores con cinética de crecimiento consistente, y se utilizan para modelar la enfermedad metastásica en estadio avanzado.

La evaluación de la terapia se realizó usando tumores tanto subcutáneos como diseminados. Para el melanoma o mieloma múltiple, los autores habían evaluado anteriormente el resultado del tratamiento con terapias habituales y la monoterapia con inhibidores del punto de control que incluyen anti-PDL1 y anti-CTLA4. Esto facilitó en gran medida la evaluación de 206RLI como adjunto de otros regímenes de tratamiento. El inicio del tratamiento se retrasó hasta el desarrollo de lesiones grandes para permitir la evaluación de la eficacia en la enfermedad avanzada. La administración intravenosa de células tumorales permite estudios de la enfermedad metastásica, y los experimentos se extendieron a esta. La extensión a modelos ortotópicos y espontáneos de otros tipos de neoplasias malignas también se llevó a cabo.

Producción y aislamiento de la producción:

Se construyeron varias construcciones candidatas mediante síntesis génica que se analizaron en ensayos funcionales (véase más adelante) y el candidato de mejor comportamiento (ilustrado esquemáticamente en la Fig. 1A) se seleccionó para desarrollo posterior. También se desarrollaron controles negativos en forma de proteínas que contenían a) unidad de direccionamiento irrelevante y/o b) una unidad IL15 no funcional.

Mediante la optimización de vectores para la expresión periplásmica de proteínas en E. Coli, los inventores generaron construcciones plasmídicas que permitían una producción de proteínas solubles sin marca en matraces agitados convencionales y también en cultivos de alta densidad. Se consiguió purificación adicional usando una columna de inmunoafinidad con un anticuerpo anti-IL15.

Caracterización *in vitro*:

Se comprobó que la proteína 206RLI aislada se unió a CD206 humano y de murino con alta afinidad, lo que confirma que la proteína de fusión recombinante conserva las propiedades de unión a la diana. La funcionalidad de la unidad IL15 se había comprobado en ensayos de proliferación de linfocitos T, mostrando potentes efectos inductores del crecimiento en linfocitos T tanto humanos como murinos que superaban los de la IL15 purificada natural (Fig. 2).

Experimentos terapéuticos *in vivo*:

La eficacia terapéutica de la proteína 206RLI se evaluó en experimentos preliminares en modelos murinos de mieloma y melanoma.

Se realizaron experimentos en ratones que tenían tumores subcutáneos palpables con un diámetro >10 mm, lo que constituye una alta carga tumoral. El tratamiento se realizó mediante administración sistémica (i. p.) de 100 µg/dosis en días alternos durante nueve días. En ambos casos, el tratamiento con 206RLI conduce a la formación de una ulceración necrótica central dentro de los tumores en unos pocos días y una rápida y drástica contracción de los tumores (Figura 3A).

En el día +10, el lecho del tumor se redujo a un tejido cicatrizado denso en la mayoría de los ratones (Figura 3B). De acuerdo con esta observación, la exploración histoquímica del sitio del tumor el día +10 después de iniciar el tratamiento reveló la formación de infiltrados inflamatorios en el lecho del tumor después del tratamiento, donde las células tumorales se limitan a pequeñas zonas encapsuladas.

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Oslo universitetssykehus HF

<120> COMPOSICIONES Y PROCEDIMIENTOS PARA EL TRATAMIENTO DEL CÁNCER

<130> INVEN-34589/WO-1/ORD

<150> US 62/309.704

<151> 17/03/2016

<160> 196

<170> PatentIn versión 3.5

<210> 1

<211> 1047

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

<400> 1

ES 2 831 852 T3

atggcccagg	ttcagctgca	agagagcggg	gggggcctgg	tacagccggg	cgggagcttg	60
cgcctgtcct	gtgcggcatc	aggtaatatc	ttttcaatta	acgcgattgg	atggtaccgc	120
caagccccgg	ggaacacagc	tgagctggtg	gccaccatta	ccctctcagg	ttccaccaac	180
tacgctgatt	ctgtcaaagg	gcgctttagc	atttcacgcg	acaatgcaaa	aaataccgtg	240
tacctgcaaa	tgaattctct	taaaccagaa	gacactgccg	tctattattg	caacgcgaac	300
acatattcgg	acagtgcagt	gtatggttat	tggggacagg	gtacgcaggt	caccgtctcg	360
agcgcacacc	atagtgaaga	tccctcgtcc	aaagccccca	aagcaccgat	ggcaatcaca	420
tgcccgccgc	cgatgtcagt	cgaacatgcg	gacatttggg	tcaaaagcta	ctccttatac	480
agtcgcgagc	gttatatctg	caactccggc	ttcaagcgca	aagcgggcac	cagttctctg	540
acggaatgtg	tactgaataa	agctacaaat	gtgggtcact	ggacgacccc	tagcctgaaa	600
tgtattcgcg	acccggccct	ggtacatcag	cgtccggcgc	cgccgtcagg	ggggtccggt	660
ggcggaggct	ccgggggagg	atctggcggg	ggaggtagct	tacaaaattg	ggtcaacgtt	720
atcagcgatc	tgaagaaaat	tgaagactta	attcagagca	tgcacatcga	cgccaccctg	780
tacacggaaa	gcgatgtgca	cccatcctgt	aaagtcacag	ccatgaaatg	ctttctcttg	840
gaacttcagg	taattagcct	ggaatccggt	gatgcaagca	ttcatgatac	ggtcgaaaat	900
ttgattattc	ttgcgaacaa	ttctctgtcc	agtaatggga	acgtcacgga	aagcggctgt	960
aaggagtgcg	aagaactgga	ggagaaaaac	attaaagaat	ttctgcagag	cttcgtgcat	1020
atcgtgcaga	tgttcatcaa	cacatca				1047

<210> 2

<211> 349

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

<400> 2

ES 2 831 852 T3

Met	Ala	Gln	Val	Gln	Leu	Gln	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	1	5	10	15
Gly	Gly	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Asn	Ile	Phe	Ser	20	25	30	
Ile	Asn	Ala	Ile	Gly	Trp	Tyr	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gln	Arg	Glu	35	40	45	
Leu	Val	Ala	Thr	Ile	Thr	Leu	Ser	Gly	Ser	Thr	Asn	Tyr	Ala	Asp	Ser	50	55	60	
Val	Lys	Gly	Arg	Phe	Ser	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ala	Lys	Asn	Thr	Val	65	70	75	80
Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Lys	Pro	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	85	90	95	
Cys	Asn	Ala	Asn	Thr	Tyr	Ser	Asp	Ser	Asp	Val	Tyr	Gly	Tyr	Trp	Gly	100	105	110	
Gln	Gly	Thr	Gln	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	His	His	Ser	Glu	Asp	Pro	115	120	125	
Ser	Ser	Lys	Ala	Pro	Lys	Ala	Pro	Met	Ala	Ile	Thr	Cys	Pro	Pro	Pro	130	135	140	
Met	Ser	Val	Glu	His	Ala	Asp	Ile	Trp	Val	Lys	Ser	Tyr	Ser	Leu	Tyr	145	150	155	160
Ser	Arg	Glu	Arg	Tyr	Ile	Cys	Asn	Ser	Gly	Phe	Lys	Arg	Lys	Ala	Gly	165	170	175	
Thr	Ser	Ser	Leu	Thr	Glu	Cys	Val	Leu	Asn	Lys	Ala	Thr	Asn	Val	Ala	180	185	190	
His	Trp	Thr	Thr	Pro	Ser	Leu	Lys	Cys	Ile	Arg	Asp	Pro	Ala	Leu	Val	195	200	205	
His	Gln	Arg	Pro	Ala	Pro	Pro	Ser	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	210	215	220	

ES 2 831 852 T3

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Leu Gln Asn Trp Val Asn Val
225 230 235 240

Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile Gln Ser Met His Ile
245 250 255

Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His Pro Ser Cys Lys Val
260 265 270

Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln Val Ile Ser Leu Glu
275 280 285

Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu Asn Leu Ile Ile Leu
290 295 300

Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val Thr Glu Ser Gly Cys
305 310 315 320

Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile Lys Glu Phe Leu Gln
325 330 335

Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn Thr Ser
340 345

<210> 3
<211> 249
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> sintética

<400> 3

atggcccagg ttcagctgca agagagcggg gggggcctgg tacagccggg cgggagcttg 60
cgcctgtcct gtgcggcatc aggtaatatc ttttcaatta acgcgattgg atggtaccgc 120
caagccccgg ggaaacagcg tgagctggtg gccaccatta ccctctcagg ttccaccaac 180
tacgctgatt ctgtcaaagg gcgcttttagc atttcacgcg acaatgcaaa aaataccgtg 240
tacctgcaa 249

<210> 4
<211> 156
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> sintética

<400> 4

ES 2 831 852 T3

	atgaattctc ttaaaccaga agacactgcc gtctattatt gcaacgcgaa cacatattcg	60
	gacagtgcgc tgtatgggta ttggggacag ggtacgcagg tcaccgtctc gagcgcacac	120
	catagtgaag atccctcgtc caaagcccc aaagca	156
5	<210> 5 <211> 240 <212> ADN <213> Secuencia artificial <220> <223> sintética <400> 5	
	ccgatggcaa tcacatgccc gccgccgatg tcagtcgaac atgcggacat ttgggtcaaa	60
	agctactcct tatacagtcg cgagcgttat atctgcaact ccggcttcaa gcgcaaagcg	120
	ggcaccagtt ctctgacgga atgtgtactg aataaagcta caaatgtggc tctactggacg	180
	accctagcc tgaaatgtat tcgcgacccg gccctggtag atcagcgtcc ggcgccgccg	240
10	<210> 6 <211> 60 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
15	<220> <223> sintética <400> 6	
	tcaggggggt ccggtggcg aggcctccgg ggaggatctg gcgggggagg tagcttaca	60
20	<210> 7 <211> 346 <212> ADN <213> Secuencia artificial <220> <223> sintética <400> 7	
	aattgggtca acgttatcag cgatctgaag aaaattgaag acttaattca gagcatgcac	60
	atcgacgcca ccctgtacac ggaaagcgat gtgcacccat cctgtaaagt cacagccatg	120
	aaatgctttc tcttggaact tcaggtaatt agcctggaat ccggtgatgc aagcattcat	180
	gatacggctc aaaatttgat tattcttgcg aacaattctc tgtccagtaa tgggaacgctc	240
	acggaaagcg gctgtaagga gtgcgaagaa ctggaggaga aaaacattaa agaatttctg	300
25	cagagcttcg tgcataatcgt gcagatgttc atcaacacat cataat	346
30	<210> 8 <211> 351 <212> ADN <213> Secuencia artificial <220> <223> sintética	

ES 2 831 852 T3

<400> 8

```
atggcaact gggatgaacgt tatcagcgac ctgaagaaaa tcgaggatct gattcagagc      60
atgcacattg acgcgaccct gtacaccgaa agcgatgtgc acccgagctg caagggtacc      120
gcgatgaaat gcttcctgct ggagctgcaa gtgatcagcc tggaaagcgg tgacgcgagc      180
attcacgata ccgttgagaa cctgatcatt ctggcgaaaca acagcctgag cagcaacggt      240
aacgtgaccg agagcgggctg caaggaatgc gaggaactgg aggaaaagaa catcaaagaa      300
ttcctgcaga gctttgtgca catcggtcaa atgtttatta acaccagcga g              351
```

<210> 9

<211> 117

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

<400> 9

```
Met Ala Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp
1              5              10              15
```

```
Leu Ile Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp
                20              25              30
```

```
Val His Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu
                35              40              45
```

```
Leu Gln Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr
                50              55              60
```

```
Val Glu Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly
65              70              75              80
```

```
Asn Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys
                85              90              95
```

```
Asn Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe
                100             105             110
```

```
Ile Asn Thr Ser Glu
                115
```

<210> 10

<211> 261

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

<400> 10

atggcccagg tgcagctggt ggagtcagg ggtggatcgg ttcaggcagg gggcagcctc 60
cgtctgtctt gcacagcgag cggcggtagc gaatacagct actccacctt cagtttaggc 120
tggttccggc aggcaccggg tcaagaacgc gaagccgtag cggcaattgc cagcatggga 180
ggtttgacct attacgtga ctccgtcaaa gggcgcttca caattagccg tgacaacgca 240
aagaatacgg taacccttca g 261

<210> 11

<211> 86

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

<400> 11

Met Ala Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Ala
1 5 10 15

Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Gly Ser Glu Tyr
20 25 30

Ser Tyr Ser Thr Phe Ser Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Gln
35 40 45

Glu Arg Glu Ala Val Ala Ala Ile Ala Ser Met Gly Gly Leu Thr Tyr
50 55 60

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

Lys Asn Thr Val Thr Leu
85

<210> 12

<211> 507

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

<400> 12

ES 2 831 852 T3

atggcatgcg acctgccgca gacccacaac ctgctgaaca agcgtgctgct gaccctgctg	60
gtgcaaattgc gtcgtctgag cccgctgagc tgcctgaagg accgtaaaga tttcggtttt	120
ccgcaggaga aggtggacgc gcagcaaata aagaaagcgc aagcgattcc ggttctgagc	180
gaactgaccc agcaaatacct gaacattttc accagcaaag atagcagcgc ggcgtggaac	240
accaccctgc tggacagctt ttgcaacgat ctgcaccagc aactgaacga cctgcagggt	300
tgcctgatgc agcaagtggg cgttcaggag ttcccgtga cccaagaaga tgcgctgctg	360
gcggtgcgta agtactttca ccgtatcacc gtttatctgc gtgagaagaa acacagcccg	420
tgcgctggg aagtggttcg tgcggaagtg tggcgtgctg ttagcagcag cgcgaacgtt	480
ctgggccgtc tgcgtgagga aaaagag	507

<210> 13

<211> 169

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

<400> 13

5

ES 2 831 852 T3

Met Ala Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Asn Leu Arg Asn Lys Arg Ala
1 5 10 15

Leu Thr Leu Leu Val Gln Met Arg Arg Leu Ser Pro Leu Ser Cys Leu
20 25 30

Lys Asp Arg Lys Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Lys Val Asp Ala Gln
35 40 45

Gln Ile Lys Lys Ala Gln Ala Ile Pro Val Leu Ser Glu Leu Thr Gln
50 55 60

Gln Ile Leu Asn Ile Phe Thr Ser Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asn
65 70 75 80

Thr Thr Leu Leu Asp Ser Phe Cys Asn Asp Leu His Gln Gln Leu Asn
85 90 95

Asp Leu Gln Gly Cys Leu Met Gln Gln Val Gly Val Gln Glu Phe Pro
100 105 110

Leu Thr Gln Glu Asp Ala Leu Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe His Arg
115 120 125

Ile Thr Val Tyr Leu Arg Glu Lys Lys His Ser Pro Cys Ala Trp Glu
130 135 140

Val Val Arg Ala Glu Val Trp Arg Ala Leu Ser Ser Ser Ala Asn Val
145 150 155 160

Leu Gly Arg Leu Arg Glu Glu Lys Glu
165

<210> 14

<211> 381

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

<400> 14

ES 2 831 852 T3

```

atggcacagg gtccggaccg tctgctgata cgtctgcgtc acctgatcga tattgtggag      60
caactgaaaa tttagcaaaa cgacctggat ccggagctgc tgagcgcgcc gcaggacgtt      120
aagggtcact gcgaacacgc ggcgttcgcg tgctttcaaa aggcgaaact gaagccgagc      180
aaccggggca acaacaaaac cttcatcatt gacctggttg cgcagctgcg tcgtcgtctg      240
ccggcgcgtc gtggtggcaa gaaacaaaaa cacatcgcga agtgcccagag ctgcgatagc      300
tatgagaaac gtaccccgaa ggagtttctg gaacgtctga aatggctgct gcagaagatg      360
attcaccaac acctgagcga g                                     381

```

<210> 15

<211> 127

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

<400> 15

```

Met Ala Gln Gly Pro Asp Arg Leu Leu Ile Arg Leu Arg His Leu Ile
 1              5              10              15

```

```

Asp Ile Val Glu Gln Leu Lys Ile Tyr Glu Asn Asp Leu Asp Pro Glu
          20              25              30

```

```

Leu Leu Ser Ala Pro Gln Asp Val Lys Gly His Cys Glu His Ala Ala
          35              40              45

```

```

Phe Ala Cys Phe Gln Lys Ala Lys Leu Lys Pro Ser Asn Pro Gly Asn
 50              55              60

```

```

Asn Lys Thr Phe Ile Ile Asp Leu Val Ala Gln Leu Arg Arg Arg Leu
 65              70              75              80

```

```

Pro Ala Arg Arg Gly Gly Lys Lys Gln Lys His Ile Ala Lys Cys Pro
          85              90              95

```

```

Ser Cys Asp Ser Tyr Glu Lys Arg Thr Pro Lys Glu Phe Leu Glu Arg
          100              105              110

```

```

Leu Lys Trp Leu Leu Gln Lys Met Ile His Gln His Leu Ser Glu
          115              120              125

```

10 <210> 16

<211> 390

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> sintética

<400> 16

atggcacaca aaagcagccc gcaggggtccg gaccgtctgc tgatccgtct gcgtcacctg 60
atcgatattg tggagcaact gaaaattttac gaaaacgacc tggatccgga gctgctgagc 120
gcgccgcagg acgttaaggg tcaactgcgaa cacgcggcgt tcgcgtgctt tcaaaaggcg 180
aaactgaagc cgagcaaccc gggcaacaac aagaccttca tcattgacct gggtgcgcag 240
ctgcgtcgtc gtctgccggc gcgtcgtggt ggcaagaaac aaaaacacat cgcgaagtgc 300
ccgagctgcg atagctatga gaaacgtacc ccgaaggagt ttctggaacg tctgaaatgg 360
ctgctgcaga agatgattca ccaacacctg 390

<210> 17

<211> 130

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

<400> 17

Met Ala His Lys Ser Ser Pro Gln Gly Pro Asp Arg Leu Leu Ile Arg
1 5 10 15

Leu Arg His Leu Ile Asp Ile Val Glu Gln Leu Lys Ile Tyr Glu Asn
20 25 30

Asp Leu Asp Pro Glu Leu Leu Ser Ala Pro Gln Asp Val Lys Gly His
35 40 45

Cys Glu His Ala Ala Phe Ala Cys Phe Gln Lys Ala Lys Leu Lys Pro
50 55 60

Ser Asn Pro Gly Asn Asn Lys Thr Phe Ile Ile Asp Leu Val Ala Gln
65 70 75 80

Leu Arg Arg Arg Leu Pro Ala Arg Arg Gly Gly Lys Lys Gln Lys His
85 90 95

Ile Ala Lys Cys Pro Ser Cys Asp Ser Tyr Glu Lys Arg Thr Pro Lys
100 105 110

Glu Phe Leu Glu Arg Leu Lys Trp Leu Leu Gln Lys Met Ile His Gln
115 120 125

His Leu
130

<210> 18

<211> 465

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

ES 2 831 852 T3

<220>

<223> sintética

<400> 18

atggcagact gcgatatcga gggcaaggac ggcaaacagt acgaaagcgt gctgatgggt	60
agcatcgacc aactgctgga tagcatgaag gagattggta gcaactgcct gaacaacgaa	120
ttcaacttct ttaagcgtca catttgcgat gcgaacaaag agggcatggt cctgtttcgt	180
gcggcgcgta agctgcgtca gttcctgaaa atgaacagca ccggtgactt tgatctgcac	240
ctgctgaagg tgagcgaagg caccaccatc ctgctgaact gcaccggtca ggttaaaggt	300
cgtaaaccgg cggcgctggg cgaggcgcaa ccgaccaaaa gcctggagga aaacaagagc	360
ctgaaagaac agaagaaact gaacgacctg tgctttctga agcgtctgct gcaagagatc	420
aagacctgct ggaacaaaat tctgatgggc accaaagaac acgag	465

5

<210> 19

<211> 155

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

10

<220>

<223> sintética

<400> 19

ES 2 831 852 T3

Met Ala Asp Cys Asp Ile Glu Gly Lys Asp Gly Lys Gln Tyr Glu Ser
1 5 10 15

Val Leu Met Val Ser Ile Asp Gln Leu Leu Asp Ser Met Lys Glu Ile
20 25 30

Gly Ser Asn Cys Leu Asn Asn Glu Phe Asn Phe Phe Lys Arg His Ile
35 40 45

Cys Asp Ala Asn Lys Glu Gly Met Phe Leu Phe Arg Ala Ala Arg Lys
50 55 60

Leu Arg Gln Phe Leu Lys Met Asn Ser Thr Gly Asp Phe Asp Leu His
65 70 75 80

Leu Leu Lys Val Ser Glu Gly Thr Thr Ile Leu Leu Asn Cys Thr Gly
85 90 95

Gln Val Lys Gly Arg Lys Pro Ala Ala Leu Gly Glu Ala Gln Pro Thr
100 105 110

Lys Ser Leu Glu Glu Asn Lys Ser Leu Lys Glu Gln Lys Lys Leu Asn
115 120 125

Asp Leu Cys Phe Leu Lys Arg Leu Leu Gln Glu Ile Lys Thr Cys Trp
130 135 140

Asn Lys Ile Leu Met Gly Thr Lys Glu His Glu
145 150 155

<210> 20

<211> 480

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

<400> 20

ES 2 831 852 T3

atggcagtgc gtagcagcag ccgtaccccg agcgacaagc cggttgcgca tgtggttgcg	60
aaccgcgagg cggaggggtca gctgcaatgg ctgaaccgtc gtgcgaacgc gctgctggcg	120
aacggtgtgg aactgcgtga taaccaactg gtggttccga gcgagggcct gtacctgatc	180
tatagccagg tgctgttcaa aggtcaaggc tgcccagagca cccacgttct gctgaccac	240
accatcagcc gtattgcggt gagctaccag accaaggtta acctgctgag cgcgattaaa	300
agcccgtgcc aacgtgaaac cccggaggggt gcggagggcga agccgtggta cgaaccgatc	360
tatctgggtg gcgtgtttca gctggaaaaa ggcgaccgtc tgagcgcgga gattaaccgt	420
ccggactacc tggatttcgc ggagagcggg caagtttatt ttggcatcat tgcgctggag	480

<210> 21

<211> 160

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

<400> 21

5

ES 2 831 852 T3

Met Ala Val Arg Ser Ser Ser Arg Thr Pro Ser Asp Lys Pro Val Ala
1 5 10 15

His Val Val Ala Asn Pro Gln Ala Glu Gly Gln Leu Gln Trp Leu Asn
20 25 30

Arg Arg Ala Asn Ala Leu Leu Ala Asn Gly Val Glu Leu Arg Asp Asn
35 40 45

Gln Leu Val Val Pro Ser Glu Gly Leu Tyr Leu Ile Tyr Ser Gln Val
50 55 60

Leu Phe Lys Gly Gln Gly Cys Pro Ser Thr His Val Leu Leu Thr His
65 70 75 80

Thr Ile Ser Arg Ile Ala Val Ser Tyr Gln Thr Lys Val Asn Leu Leu
85 90 95

Ser Ala Ile Lys Ser Pro Cys Gln Arg Glu Thr Pro Glu Gly Ala Glu
100 105 110

Ala Lys Pro Trp Tyr Glu Pro Ile Tyr Leu Gly Gly Val Phe Gln Leu
115 120 125

Glu Lys Gly Asp Arg Leu Ser Ala Glu Ile Asn Arg Pro Asp Tyr Leu
130 135 140

Asp Phe Ala Glu Ser Gly Gln Val Tyr Phe Gly Ile Ile Ala Leu Glu
145 150 155 160

<210> 22

<211> 408

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

<400> 22

Ala Thr Gly Gly Cys Ala Gly Cys Gly Cys Cys Gly Ala Cys Cys Ala
1 5 10 15

Gly Cys Ala Gly Cys Ala Gly Cys Ala Cys Cys Ala Ala Gly Ala Ala
20 25 30

Ala Ala Cys Cys Cys Ala Gly Cys Thr Gly Cys Ala Ala Cys Thr Gly
35 40 45

ES 2 831 852 T3

Gly Ala Ala Cys Ala Cys Cys Thr Gly Cys Thr Gly Cys Thr Gly Gly
 50 55 60
 Ala Cys Cys Thr Gly Cys Ala Gly Ala Thr Gly Ala Thr Thr Cys Thr
 65 70 75 80
 Gly Ala Ala Cys Gly Gly Thr Ala Thr Cys Ala Ala Cys Ala Ala Cys
 85 90 95
 Thr Ala Cys Ala Ala Gly Ala Ala Cys Cys Cys Gly Ala Ala Ala Cys
 100 105 110
 Thr Gly Ala Cys Cys Cys Gly Thr Ala Thr Gly Cys Thr Gly Ala Cys
 115 120 125
 Cys Thr Thr Cys Ala Ala Gly Thr Thr Thr Thr Ala Thr Ala Thr Gly
 130 135 140
 Cys Cys Gly Ala Ala Gly Ala Ala Ala Gly Cys Gly Ala Cys Cys Gly
 145 150 155 160
 Ala Gly Cys Thr Gly Ala Ala Gly Cys Ala Cys Cys Thr Gly Cys Ala
 165 170 175
 Gly Thr Gly Cys Cys Thr Gly Gly Ala Gly Gly Ala Ala Gly Ala Gly
 180 185 190
 Cys Thr Gly Ala Ala Ala Cys Cys Gly Cys Thr Gly Gly Ala Ala Gly
 195 200 205
 Ala Gly Gly Thr Gly Cys Thr Gly Ala Ala Cys Cys Thr Gly Gly Cys
 210 215 220
 Gly Cys Ala Ala Ala Gly Cys Ala Ala Gly Ala Ala Cys Thr Thr Cys
 225 230 235 240
 Cys Ala Cys Cys Thr Gly Cys Gly Thr Cys Cys Gly Cys Gly Thr Gly
 245 250 255
 Ala Cys Cys Thr Gly Ala Thr Cys Ala Gly Cys Ala Ala Cys Ala Thr
 260 265 270
 Thr Ala Ala Cys Gly Thr Gly Ala Thr Cys Gly Thr Thr Cys Thr Gly
 275 280 285
 Gly Ala Ala Cys Thr Gly Ala Ala Ala Gly Gly Cys Ala Gly Cys Gly
 290 295 300

ES 2 831 852 T3

Ala Ala Ala Cys Cys Ala Cys Cys Thr Thr Thr Ala Thr Gly Thr Gly
305 310 315 320

Cys Gly Ala Ala Thr Ala Cys Gly Cys Gly Gly Ala Thr Gly Ala Ala
325 330 335

Ala Cys Cys Gly Cys Gly Ala Cys Cys Ala Thr Thr Gly Thr Thr Gly
340 345 350

Ala Ala Thr Thr Cys Cys Thr Gly Ala Ala Cys Cys Gly Thr Thr Gly
355 360 365

Gly Ala Thr Cys Ala Cys Cys Thr Thr Thr Thr Gly Cys Cys Ala Ala
370 375 380

Ala Gly Cys Ala Thr Cys Ala Thr Thr Ala Gly Cys Ala Cys Cys Cys
385 390 395 400

Thr Gly Ala Cys Cys Gly Ala Gly
405

<210> 23

<211> 136

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

<400> 23

Met Ala Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu
1 5 10 15

Glu His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn
20 25 30

Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met
35 40 45

Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu
50 55 60

Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe
65 70 75 80

His Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu
85 90 95

ES 2 831 852 T3

Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu
100 105 110

Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln
115 120 125

Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr Glu
130 135

<210> 24

<211> 408

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

<400> 24

Ala Thr Gly Gly Cys Ala Gly Cys Gly Cys Cys Gly Ala Cys Cys Ala
1 5 10 15

Gly Cys Ala Gly Cys Ala Gly Cys Ala Cys Cys Ala Ala Gly Ala Ala
20 25 30

Ala Ala Cys Cys Cys Ala Gly Cys Thr Gly Cys Ala Ala Cys Thr Gly
35 40 45

Gly Ala Ala Cys Ala Cys Cys Thr Gly Cys Thr Gly Cys Thr Gly Gly
50 55 60

Ala Cys Cys Thr Gly Cys Ala Gly Ala Thr Gly Ala Thr Thr Cys Thr
65 70 75 80

Gly Ala Ala Cys Gly Gly Thr Ala Thr Cys Ala Ala Cys Ala Ala Cys
85 90 95

Thr Ala Cys Ala Ala Gly Ala Ala Cys Cys Cys Gly Ala Ala Ala Cys
100 105 110

Thr Gly Ala Cys Cys Cys Gly Thr Ala Thr Gly Cys Thr Gly Ala Cys
115 120 125

Cys Thr Thr Cys Ala Ala Gly Thr Thr Thr Thr Ala Thr Ala Thr Gly
130 135 140

Cys Cys Gly Ala Ala Gly Ala Ala Ala Gly Cys Gly Ala Cys Cys Gly
145 150 155 160

ES 2 831 852 T3

Ala Gly Cys Thr Gly Ala Ala Gly Cys Ala Cys Cys Thr Gly Cys Ala
165 170 175

Gly Thr Gly Cys Cys Thr Gly Gly Ala Gly Gly Ala Ala Gly Ala Gly
180 185 190

Cys Thr Gly Ala Ala Ala Cys Cys Gly Cys Thr Gly Gly Ala Ala Gly
195 200 205

Ala Gly Gly Thr Gly Cys Thr Gly Ala Ala Cys Cys Thr Gly Gly Cys
210 215 220

Gly Cys Ala Ala Ala Gly Cys Ala Ala Gly Ala Ala Cys Thr Thr Cys
225 230 235 240

Cys Ala Cys Cys Thr Gly Cys Gly Thr Cys Cys Gly Cys Gly Thr Gly
245 250 255

Ala Cys Cys Thr Gly Ala Thr Cys Ala Gly Cys Ala Ala Cys Ala Thr
260 265 270

Thr Ala Ala Cys Gly Thr Gly Ala Thr Cys Gly Thr Thr Cys Thr Gly
275 280 285

Gly Ala Ala Cys Thr Gly Ala Ala Ala Gly Gly Cys Ala Gly Cys Gly
290 295 300

Ala Ala Ala Cys Cys Ala Cys Cys Thr Thr Thr Ala Thr Gly Thr Gly
305 310 315 320

Cys Gly Ala Ala Thr Ala Cys Gly Cys Gly Gly Ala Thr Gly Ala Ala
325 330 335

Ala Cys Cys Gly Cys Gly Ala Cys Cys Ala Thr Thr Gly Thr Thr Gly
340 345 350

Ala Ala Thr Thr Cys Cys Thr Gly Ala Ala Cys Cys Gly Thr Thr Gly
355 360 365

Gly Ala Thr Cys Ala Cys Cys Thr Thr Thr Gly Cys Gly Cys Ala Ala
370 375 380

Ala Gly Cys Ala Thr Cys Ala Thr Thr Ala Gly Cys Ala Cys Cys Cys
385 390 395 400

Thr Gly Ala Cys Cys Gly Ala Gly
405

<210> 25
<211> 136

<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> sintética

5 <400> 25

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

<210> 26
<211> 618
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10

<220>
<223> sintética

<400> 26

Thr	Thr	Cys	Cys	Cys	Gly	Ala	Cys	Cys	Gly	Ala	Thr	Cys	Cys	Gly	Cys	1	5	10	15
Thr	Gly	Ala	Gly	Cys	Cys	Thr	Gly	Cys	Ala	Ala	Gly	Ala	Ala	Cys	Thr	20	25	30	

ES 2 831 852 T3

Gly Cys Gly Thr Cys Gly Thr Gly Ala Ala Thr Thr Thr Ala Cys Cys
 35 40 45
 Gly Thr Thr Ala Gly Cys Cys Thr Gly Thr Ala Thr Cys Thr Gly Gly
 50 55 60
 Cys Gly Cys Gly Thr Ala Ala Gly Cys Thr Gly Cys Thr Gly Ala Gly
 65 70 75 80
 Cys Gly Ala Ala Gly Thr Gly Cys Ala Gly Gly Gly Thr Thr Ala Cys
 85 90 95
 Gly Thr Thr Cys Ala Cys Ala Gly Cys Thr Thr Cys Gly Cys Gly Gly
 100 105 110
 Ala Ala Ala Gly Cys Cys Gly Thr Cys Thr Gly Cys Cys Gly Gly Gly
 115 120 125
 Thr Gly Thr Thr Ala Ala Cys Cys Thr Gly Gly Ala Thr Cys Thr Gly
 130 135 140
 Cys Thr Gly Cys Cys Gly Cys Thr Gly Gly Gly Thr Thr Ala Thr Cys
 145 150 155 160
 Ala Cys Cys Thr Gly Cys Cys Gly Ala Ala Cys Gly Thr Thr Ala Gly
 165 170 175
 Cys Cys Thr Gly Ala Cys Cys Thr Thr Thr Cys Ala Gly Gly Cys Gly
 180 185 190
 Thr Gly Gly Cys Ala Cys Cys Ala Cys Cys Thr Gly Ala Gly Cys Gly
 195 200 205
 Ala Thr Ala Gly Cys Gly Ala Ala Cys Gly Thr Cys Thr Gly Thr Gly
 210 215 220
 Cys Thr Thr Thr Cys Thr Gly Gly Cys Gly Ala Cys Cys Ala Cys Cys
 225 230 235 240
 Cys Thr Gly Cys Gly Thr Cys Cys Gly Thr Thr Cys Cys Cys Gly Gly
 245 250 255
 Cys Gly Ala Thr Gly Cys Thr Gly Gly Gly Thr Gly Gly Cys Cys Thr
 260 265 270
 Gly Gly Gly Thr Ala Cys Cys Cys Ala Ala Gly Gly Thr Ala Cys Cys

ES 2 831 852 T3

275						280						285					
Thr	Gly	Gly	Ala	Cys	Cys	Ala	Gly	Cys	Ala	Gly	Cys	Gly	Ala	Gly	Cys		
290						295						300					
Gly	Thr	Gly	Ala	Ala	Cys	Ala	Gly	Cys	Thr	Gly	Thr	Gly	Gly	Gly	Cys		
305					310					315					320		
Gly	Ala	Thr	Gly	Cys	Gly	Thr	Cys	Thr	Gly	Gly	Ala	Thr	Cys	Thr	Gly		
				325					330					335			
Cys	Gly	Thr	Gly	Ala	Cys	Cys	Thr	Gly	Cys	Ala	Cys	Cys	Gly	Thr	Cys		
			340					345					350				
Ala	Cys	Cys	Thr	Gly	Cys	Gly	Thr	Thr	Thr	Cys	Cys	Ala	Gly	Gly	Thr		
		355					360					365					
Thr	Cys	Thr	Gly	Gly	Cys	Gly	Gly	Cys	Gly	Gly	Gly	Cys	Thr	Thr	Cys		
370					375						380						
Ala	Ala	Gly	Thr	Gly	Cys	Ala	Gly	Cys	Ala	Ala	Ala	Gly	Ala	Gly	Gly		
385					390					395					400		
Ala	Ala	Gly	Ala	Gly	Gly	Ala	Cys	Ala	Ala	Gly	Gly	Ala	Ala	Gly	Ala		
				405					410					415			
Gly	Gly	Ala	Ala	Gly	Ala	Gly	Gly	Ala	Ala	Gly	Ala	Ala	Gly	Ala	Ala		
			420					425					430				
Gly	Ala	Gly	Gly	Ala	Ala	Gly	Ala	Gly	Ala	Ala	Gly	Ala	Ala	Ala	Cys		
		435					440				445						
Thr	Gly	Cys	Cys	Gly	Cys	Thr	Gly	Gly	Gly	Cys	Gly	Cys	Gly	Cys	Thr		
450					455						460						
Gly	Gly	Gly	Thr	Gly	Gly	Cys	Cys	Cys	Gly	Ala	Ala	Cys	Cys	Ala	Ala		
465					470					475					480		
Gly	Thr	Thr	Ala	Gly	Cys	Ala	Gly	Cys	Cys	Ala	Ala	Gly	Thr	Thr	Ala		
				485					490					495			
Gly	Cys	Thr	Gly	Gly	Cys	Cys	Gly	Cys	Ala	Gly	Cys	Thr	Gly	Cys	Thr		
			500				505						510				
Gly	Thr	Ala	Thr	Ala	Cys	Cys	Thr	Ala	Cys	Cys	Ala	Gly	Cys	Thr	Gly		
		515					520					525					

ES 2 831 852 T3

Cys Thr Gly Cys Ala Cys Ala Gly Cys Cys Thr Gly Gly Ala Ala Cys
530 535 540

Thr Gly Gly Thr Thr Cys Thr Gly Ala Gly Cys Cys Gly Thr Gly Cys
545 550 555 560

Gly Gly Thr Thr Cys Gly Thr Gly Ala Cys Cys Thr Gly Cys Thr Gly
565 570 575

Cys Thr Gly Cys Thr Gly Ala Gly Cys Cys Thr Gly Cys Cys Gly Cys
580 585 590

Gly Thr Cys Gly Thr Cys Cys Gly Gly Gly Thr Ala Gly Cys Gly Cys
595 600 605

Gly Thr Gly Gly Gly Ala Thr Ala Gly Cys
610 615

<210> 27

<211> 206

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

<400> 27

ES 2 831 852 T3

Phe Pro Thr Asp Pro Leu Ser Leu Gln Glu Leu Arg Arg Glu Phe Thr
1 5 10 15

Val Ser Leu Tyr Leu Ala Arg Lys Leu Leu Ser Glu Val Gln Gly Tyr
20 25 30

Val His Ser Phe Ala Glu Ser Arg Leu Pro Gly Val Asn Leu Asp Leu
35 40 45

Leu Pro Leu Gly Tyr His Leu Pro Asn Val Ser Leu Thr Phe Gln Ala
50 55 60

Trp His His Leu Ser Asp Ser Glu Arg Leu Cys Phe Leu Ala Thr Thr
65 70 75 80

Leu Arg Pro Phe Pro Ala Met Leu Gly Gly Leu Gly Thr Gln Gly Thr
85 90 95

Trp Thr Ser Ser Glu Arg Glu Gln Leu Trp Ala Met Arg Leu Asp Leu
100 105 110

Arg Asp Leu His Arg His Leu Arg Phe Gln Val Leu Ala Ala Gly Phe

115

120

125

Lys Cys Ser Lys Glu Glu Glu Asp Lys Glu Glu Glu Glu Glu Glu
130 135 140

Glu Glu Glu Lys Lys Leu Pro Leu Gly Ala Leu Gly Gly Pro Asn Gln
145 150 155 160

Val Ser Ser Gln Val Ser Trp Pro Gln Leu Leu Tyr Thr Tyr Gln Leu
165 170 175

Leu His Ser Leu Glu Leu Val Leu Ser Arg Ala Val Arg Asp Leu Leu
180 185 190

Leu Leu Ser Leu Pro Arg Arg Pro Gly Ser Ala Trp Asp Ser
195 200 205

<210> 28

<211> 471

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

<400> 28

ES 2 831 852 T3

```

aacttcggtc gtctgcactg caccaccgcg gttatccgta atatcaatga ccaggttctg      60
ttcgtggaca agcgccagcc ggttttcgaa gatatgaccg acatcgatca gagcgcgagc      120
gaaccgcaaa cccgtctgat tatctacatg tataaggata gcgaagttcg tggctctggcg      180
gttaccctga gcgtgaaaga cagcaagatg agcaccctga gctgcaaaaa caagatcatt      240
agcttcgagg aaatggaccc gccggaaaac atcgacgata tccaaagcga cctgatcttc      300
tttcagaagc gtgttccggg tcacaacaag atggaattcg agagcagcct gtacgaaggc      360
cacttcctgg cgtgccagaa agaggacgat gcgtttaagc tgatcctgaa gaagaaagac      420
gagaatggcg acaagagcgt tatgttcacc ctgaccaacc tgcaccaaag c              471

```

<210> 29
 <211> 157
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> sintética
 <400> 29

Asn	Phe	Gly	Arg	Leu	His	Cys	Thr	Thr	Ala	Val	Ile	Arg	Asn	Ile	Asn
1				5					10					15	

ES 2 831 852 T3

Asp Gln Val Leu Phe Val Asp Lys Arg Gln Pro Val Phe Glu Asp Met
20 25 30

Thr Asp Ile Asp Gln Ser Ala Ser Glu Pro Gln Thr Arg Leu Ile Ile
35 40 45

Tyr Met Tyr Lys Asp Ser Glu Val Arg Gly Leu Ala Val Thr Leu Ser
50 55 60

Val Lys Asp Ser Lys Met Ser Thr Leu Ser Cys Lys Asn Lys Ile Ile
65 70 75 80

Ser Phe Glu Glu Met Asp Pro Pro Glu Asn Ile Asp Asp Ile Gln Ser
85 90 95

Asp Leu Ile Phe Phe Gln Lys Arg Val Pro Gly His Asn Lys Met Glu
100 105 110

Phe Glu Ser Ser Leu Tyr Glu Gly His Phe Leu Ala Cys Gln Lys Glu
115 120 125

Asp Asp Ala Phe Lys Leu Ile Leu Lys Lys Lys Asp Glu Asn Gly Asp
130 135 140

Lys Ser Val Met Phe Thr Leu Thr Asn Leu His Gln Ser
145 150 155

<210> 30

<211> 119

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

<400> 30

ES 2 831 852 T3

Asp 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 Ser Ile Phe Thr Ile Asn
20 25 30

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

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

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

65 70 75 80

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

Ala Val Val Val Thr Thr Thr Pro Tyr Ser Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 31

<211> 124

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

<400> 31

ES 2 831 852 T3

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Ala Arg Ile Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

His Lys Ala Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Ile Val
35 40 45

Ala Ala Val Asn Gly Gly Ser Ser Ser Thr Tyr Val Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Ala Ala Gly Arg Ala Gly Pro Leu Ala Ala Ser Tyr Arg Tyr Asp
100 105 110

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

<210> 32

<211> 120

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

<400> 32

ES 2 831 852 T3

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Ala Arg Ile Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

His Lys Ala Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Ile Val
35 40 45

Ala Ala Val Asn Gly Gly Ser Ser Ser Thr Tyr Val Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

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

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 33

<211> 123

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

<400> 33

Asp 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 Ser Ile Phe Thr Ile Asn
20 25 30

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

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

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

ES 2 831 852 T3

65 70 75 80

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

Ala Ala Gly Arg Ala Gly Pro Leu Ala Ala Ser Tyr Arg Tyr Asp Tyr
100 105 110

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

<210> 34

<211> 119

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

<400> 34

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Phe Thr Ile Asn
20 25 30

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

Ala Ala Ile Thr Arg Gly Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys
50 55 60

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

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

Ala Val Val Val Thr Thr Thr Pro Tyr Ser Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 35

<211> 119

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

<400> 35

ES 2 831 852 T3

Asp 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 Ala Gly Ser Ile Phe Thr Ile Asn
20 25 30

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

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

Gly Arg Phe Thr Ile Tyr Ser Gly Ser Asp Lys His Ala Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Met Asn Asp Leu Asn Pro Val Glu Thr Gly Val Tyr Tyr Cys Thr
85 90 95

Ala Val Val Val Thr Thr Thr Ala Tyr Ser Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Thr Ser
115

<210> 36

<211> 161

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

<400> 36

ES 2 831 852 T3

Asp 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 Ser Ile Phe Thr Ile Asn
20 25 30

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

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

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

65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Glu Val Ala Ala Ile Thr Ser Gly
85 90 95

Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser
100 105 110

Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys
115 120 125

Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Lys Ala Val Val Val Thr Thr
130 135 140

Thr Pro Tyr Ser Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Ser

<210> 37

<211> 119

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

<400> 37

ES 2 831 852 T3

Asp 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 Ser Ser Gly Ser Ile Phe Thr Ile Asn
20 25 30

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

Ala Ala Leu Thr Ser Gly Gly Ser Thr Asn Ser Ala Asp Ser Val Lys
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asn Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Arg
65 70 75 80

Leu Arg Asn Ser Leu Lys Pro Val Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Ala Lys
85 90 95

Ala Val Val Val Thr Thr Thr Pro Tyr Ala Asp Tyr Trp Ala Gln Ala
100 105 110

Thr Pro Val Ser Val Ser Ser
115

<210> 38

<211> 118

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

<400> 38

ES 2 831 852 T3

Asp 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 Ser Ile Phe Thr Ile Asn
20 25 30

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

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

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

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

Ala Val Val Val Thr Thr Pro Tyr Ser Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 39

<211> 160

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

<400> 39

Asp 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 Ser Ile Phe Thr Ile Asn

ES 2 831 852 T3

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

<210> 40

<211> 120

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

<400> 40

ES 2 831 852 T3

Asp 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 Ser Ile Phe Thr Ile Asn
20 25 30

Ala Met Ala Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Ile Val
35 40 45

Ala Ala Val Asn Gly Gly Ser Ser Ser Thr Tyr Val Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

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

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 41

<211> 119

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

<400> 41

ES 2 831 852 T3

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

Ser Leu Ile Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Cys Thr Ser Asn
20 25 30

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

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

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

Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Lys Val Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Lys
85 90 95

Ala Val Val Val Thr Thr Thr Pro Tyr Ser Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 42

<211> 120

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

<400> 42

ES 2 831 852 T3

Asp 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 Leu Thr Phe Ser Ile Arg
20 25 30

Val Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Asp Phe Val
35 40 45

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

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

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

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

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 43

<211> 119

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

<400> 43

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

Val Ser Glu Thr Leu Leu Cys Ser Leu Trp Lys His Leu His Tyr Gln
20 25 30

Cys His Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Glu Val
35 40 45

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

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

ES 2 831 852 T3

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

Ala Val Val Val Thr Thr Thr Pro Tyr Ser Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 44

<211> 146

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

<400> 44

Asp 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 Ser Ile Phe Thr Ile Asn
20 25 30

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

Ala Ala Ile Thr Ser Gly Gly Ser Thr Asn Asn Ala Met Gly Trp Tyr
50 55 60

Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Glu Val Ala Ala Ile Thr Ser
65 70 75 80

Gly Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile
85 90 95

Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
100 105 110

Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Lys Ala Val Val Val Thr
115 120 125

Thr Thr Pro Tyr Ser Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
130 135 140

Ser Ser
145

<210> 45

<211> 119

<212> PRT

ES 2 831 852 T3

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

<400> 45

Asp Val Gln Pro 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 Val Ser Ile Phe Thr Ile Asn
20 25 30

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

Val Ala Asn Thr Ser Gly Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys
50 55 60

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

Gln Met Asn Ser Met Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Lys
85 90 95

Ala Val Val Val Thr Thr Thr Gln Tyr Ser Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

5

<210> 46

<211> 147

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

10

<220>

<223> sintética

<400> 46

ES 2 831 852 T3

Val 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 Ser Ile Phe Thr Ile Asn
20 25 30

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

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

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

Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Val Lys Gly Arg Phe Thr
85 90 95

Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Lys Val Tyr Leu Gln Met Asn Arg
100 105 110

Leu Asn Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Lys Ala Val Val Val
115 120 125

Thr Thr Thr Pro Tyr Ser Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
130 135 140

Val Ser Ser
145

<210> 47

$\langle 211 \rangle$ 119

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

<400> 47

ES 2 831 852 T3

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Ala Arg Ile Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

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

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

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

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

Ala Val Val Val Thr Thr Thr Pro Tyr Ser Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 48

<211> 119

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

<400> 48

5

ES 2 831 852 T3

Asp 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 Ser Leu Phe Thr Ile Asn
20 25 30

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

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

Gly Arg Phe Thr Phe Ser Arg Asp Thr Ala Arg Asn Thr Val Cys Pro
65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Asp His Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Lys
85 90 95

Ala Leu Val Val Pro Pro Thr Pro Tyr Ser Val Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 49

<211> 112

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

<400> 49

Asp Val Gln Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala
1 5 10 15

ES 2 831 852 T3

Ala Ser Gly Ser Ile Phe Thr Ile Asn Ala Met Gly Trp Tyr Arg Gln
20 25 30

Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Glu Val Ala Ala Ile Thr Ser Gly Gly
35 40 45

Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg
50 55 60

Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro
65 70 75 80

Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Lys Ala Val Val Val Thr Thr Thr
85 90 95

Pro Tyr Ser Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
100 105 110

<210> 50

<211> 177

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

<400> 50

Asp 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 Ser Ile Phe Thr Ile Asn
20 25 30

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

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

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

Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Met Gly Trp Tyr Arg
85 90 95

Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Glu Val Ala Ala Ile Thr Ser Gly
100 105 110

ES 2 831 852 T3

Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser
115 120 125

Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys
130 135 140

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

Thr Pro Tyr Ser Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
165 170 175

Ser

<210> 51

<211> 119

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

<400> 51

Asp 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 Ser Ile Phe Thr Ile Asn
20 25 30

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

Ala Ala Ser Thr Ser Gly Gly Ser Pro Asn Tyr Asp Asp Ser Val Lys
50 55 60

Gly Pro Phe Asn Leu Ser Lys Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asn Arg Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Phe Lys
85 90 95

Ala Gly Gly Gly Ser Ser Thr Pro Asp Ser Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

10 <210> 52

<211> 164

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> sintética

ES 2 831 852 T3

<400> 52

Asp 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 Ser Ile Phe Thr Ser Asn
20 25 30

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

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

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Lys Asp Met Gly
65 70 75 80

Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Glu Val Ala Ala Ile
85 90 95

Thr Ser Gly Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe
100 105 110

Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn
115 120 125

Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Lys Ala Val Val
130 135 140

Val Thr Thr Thr Pro Tyr Ser Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
145 150 155 160

Thr Val Ser Ser

<210> 53

<211> 136

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

<400> 53

ES 2 831 852 T3

Asp Val Gln Pro 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 Ser Ile Phe Thr Ile Asn
20 25 30

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

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

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

Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Lys Asn Thr Val Tyr
85 90 95

Leu Lys Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Glu Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
100 105 110

Lys Ala Val Val Val Thr Thr Thr Pro Tyr Ser Asp Tyr Trp Gly Gln
115 120 125

Gly Thr Leu Val Thr Val Cys Ser
130 135

<210> 54

<211> 149

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

<400> 54

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Phe Thr Ile Asn
20 25 30

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

Ala Ala Ile Thr Ser Gly Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Pro Val Lys
50 55 60

ES 2 831 852 T3

Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Glu Val Ala Ala
65 70 75 80

Ile Thr Leu Val Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg
85 90 95

Phe Asn Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met
100 105 110

Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Lys Ala Val
115 120 125

Val Val Thr Thr Thr Pro Glu Ala Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
130 135 140

Val Thr Val Ser Ser
145

<210> 55

<211> 171

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

<400> 55

ES 2 831 852 T3

Val 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 Ser Ile Phe Thr Ile Asn
20 25 30

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

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

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

Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Ser Gln Ala Pro Gly Lys Gln
85 90 95

Arg Glu Glu Val Ala Ala Ile Thr Ser Gly Gly Ser Thr Asn Tyr Ala
100 105 110

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn

115

120

125

Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val
130 135 140

Tyr Tyr Cys Lys Ala Val Val Val Thr Thr Thr Pro Tyr Ser Asp Tyr
145 150 155 160

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
165 170

<210> 56

<211> 112

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

<400> 56

5

ES 2 831 852 T3

Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala
1 5 10 15

Ala Ser Gly Ser Ile Phe Thr Ile Asn Ala Met Gly Trp Tyr Arg Gln
20 25 30

Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Glu Val Ala Ala Ile Thr Ser Gly Gly
35 40 45

Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg
50 55 60

Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro
65 70 75 80

Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Lys Ala Val Val Val Thr Thr Thr
85 90 95

Pro Tyr Ser Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
100 105 110

<210> 57

<211> 639

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

<400> 57

atggccgatg ttcagctggt tgaaagcggc ggcggtctgg tgcagccggg tggtagctta 60

cgtctgagct gcgcagccag tggtagtatt tttaacaatta atgctatggg ttggtaccgt 120

caggcaccgg gcaaacagcg cgaagaagtt gcagcaatta ccagcgggtg tagtaccaat 180

tatgccgata gcgtgaaagg tcgtttttacc attagtcgcg ataatgcaaa aaataccggtt 240

tatctgcaga tgaatagcct gaaaccggaa gataccgcag ttattatttg caaagccggtt 300

gtggtgacca ccaccccgta tagtgattat tggggtcagg gcaccctggt taccgttagc 360

agtattttta caattaatgc tatgggttgg taccgtcagg caccgggcaa acagcgcgaa 420

gaagttgcag caattaccag cgggtgtagt accaattatg ccgatagcgt gaaaggtcgt 480

tttaccatta gtcgcgataa tgcaaaaaat accgtttatc tgcagatgaa tagcctgaaa 540

ccggaagata ccgcagttta ttattgcaaa gccgttgtgg tgaccaccac cccgtatagt 600

gattattggg gtcagggcac cctggttacc gttagcagt 639

<210> 58

<211> 213

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

ES 2 831 852 T3

<220>

<223> sintética

<400> 58

Met Ala Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro
1 5 10 15

Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Phe Thr
20 25 30

Ile Asn Ala Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu
35 40 45

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

Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val
65 70 75 80

Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95

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

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ile Phe Thr Ile Asn Ala Met
115 120 125

Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Glu Val Ala Ala
130 135 140

Ile Thr Ser Gly Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg
145 150 155 160

Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met
165 170 175

Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Lys Ala Val
180 185 190

Val Val Thr Thr Thr Pro Tyr Ser Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
195 200 205

Val Thr Val Ser Ser
210

<210> 59

<211> 378

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

<400> 59

```

atggcccagg ttcagctggt tgaaagtggc ggtggcctgg tgcaggccgg tggtagctta      60
cgtctgagct gtgccgccag cgcccgtatt tttagtagtt atcataaagc atggttccgt      120
caggccccgg gcaaagaacg tgaaattgtg gccgccgtga atggcggtag tagcagcacc      180
tatgttgacg atagtgtgaa aggtcgtttt accattagtg gtgacaatgc cctgaatacc      240
gttagcctgc agatgaatag cctgaaaccg gaagataccg ccgtgtatta ttgtgcagca      300
gcaggccgcg ccggtccggt agcagcaagt tatcgttatg attattgggg tcagggcacc      360
caggtgaccg ttagcagt                                     378

```

<210> 60

<211> 126

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

<400> 60

```

Met Ala Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala
1           5           10           15

Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Ala Arg Ile Phe Ser
          20           25           30

Ser Tyr His Lys Ala Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu
          35           40           45

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

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

Val Ser Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr
          85           90           95

Tyr Cys Ala Ala Ala Gly Arg Ala Gly Pro Leu Ala Ala Ser Tyr Arg
          100          105          110

Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
          115          120          125

```

<210> 61

<211> 366

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

ES 2 831 852 T3

<220>

<223> sintética

<400> 61

```

atggcccagg ttcagctggt ggaaagtggc ggcggcctgg tgcaggctgg tggtagctta      60
cgtctgagct gtgcagcaag cgcacgcatt tttagtagct atcataaagc atggttccgt      120
caggcccccg gcaaagaacg cgaaattggt gccgccgtta atggtggcag tagcagtacc      180
tatgtggccg atagcgtaa aggccgcttt accattagtg gtgacaatgc cctgaatacc      240
gttagcctgc agatgaatag cctgaaaccg gaagataccg cagtgtatta ttgtaaagca      300
gttgtggtga ccaccacccc gtatagtgat tattgggggtc agggcaccct ggtgaccgtg      360
agcagc                                         366

```

5

<210> 62

<211> 122

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

10

<220>

<223> sintética

<400> 62

Met Ala Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala

1 5 10 15

Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Ala Arg Ile Phe Ser
20 25 30

Ser Tyr His Lys Ala Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu
35 40 45

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

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

Val Ser Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Lys Ala Val Val Val Thr Thr Thr Pro Tyr Ser Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 63

<211> 375

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

15

<220>

<223> sintética

<400> 63

```

atggccgatg ttcagctggg ggaaagtggc ggcggcctgg ttcagccggg tggtagctta      60
cgtctgagct gtgcagcaag cggtagtatt tttacaatta atgctatggg ttggtaccgt      120
caggcaccgg gtaaacagcg cgaagaagtg gcagcaatta ccagcgggtg tagtaccaat      180
tatgccgata gcgtgaaagg ccgttttacc attagccgcg ataatgccaa aaataccggt      240
tatctgcaga tgaatagtct gaaaccggaa gataccgcag tttattattg cgccgcgcgc      300
ggccgcgcgc gtcctctggc agcaagctat cgctatgatt attggggcca gggtagccag      360
gttaccgtga gcagc                                     375

```

5

<210> 64

<211> 125

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10

<223> sintética

<400> 64

```

Met Ala Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro
1          5          10          15

Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Phe Thr
          20          25          30

Ile Asn Ala Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu
          35          40          45

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

Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val
          65          70          75          80

Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
          85          90          95

Cys Ala Ala Ala Gly Arg Ala Gly Pro Leu Ala Ala Ser Tyr Arg Tyr
          100          105          110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
          115          120          125

```

<210> 65

<211> 363

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

15

<400> 65

```

atggccgatg ttcagctggt tgaaagtggc ggcgggtctgg tgcagccggt tggtagtctg      60
cgtctgagtt gtgccgccag cggtagcatt tttacaatta atgctatggt ttggtaccgc      120
caggcaccgg gtaaaaaacg cgaagaagtg gcagccatta cccgcggcgg tagcaccaat      180
tatgcagata gcgttaaagg ccgttttacc attagccgcg ataatgcaa aaataccgtg      240
tatctgcaga tgaatagcct gaaaccggaa gataccgcag tttattattg taaagcagtg      300
gttgtgacca ccaccccgta tagcgattat tggggccagg gtaccctggt gaccgttagc      360
agc                                                                    363

```

<210> 66

<211> 121

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

<400> 66

```

Met Ala Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro
1          5          10          15

Val Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Phe Thr
          20          25          30

Ile Asn Ala Met Val Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Lys Arg Glu
          35          40          45

Glu Val Ala Ala Ile Thr Arg Gly Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser
50          55          60

Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val
65          70          75          80

Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
          85          90          95

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

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115          120

```

<210> 67

<211> 376

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

ES 2 831 852 T3

<400> 67

```

atggccgatg ttcagctggt ggaaagcggc ggcgggtctgg ttcagccggg tggtagtctg      60
cgcctgagct gcgctgcagc cggtagtatt tttacaatta atgctatggg ttggtaccgt      120
caggccccgg gtaaacagcg tgaagaagtg gcagccatta ccagcgggtg cagtaccaat      180
tatgcagata gcgtgaaagg tcgctttacc atctatagcg gtagtgataa acatgcagtg      240
tatctgcaga tgaatgatct gaatccggtt gaaaccgggtg tttattattg caccgcagtg      300
gttgtgacca ccaccgcata tagcgattat tggggtcagg gtaccctggt taccgttacc      360
agtctcgagg cggccg                                     376

```

<210> 68

<211> 121

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

<400> 68

```

Met Ala Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro
1              5              10              15

Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ala Gly Ser Ile Phe Thr
                20              25              30

Ile Asn Ala Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu
          35              40              45

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

Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Tyr Ser Gly Ser Asp Lys His Ala Val
65              70              75              80

Tyr Leu Gln Met Asn Asp Leu Asn Pro Val Glu Thr Gly Val Tyr Tyr
          85              90              95

Cys Thr Ala Val Val Val Thr Thr Thr Ala Tyr Ser Asp Tyr Trp Gly
          100             105             110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Thr Ser
          115             120

```

<210> 69

<211> 363

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

<400> 69

ES 2 831 852 T3

```

atggccgatg ttcagctggt tgaaagtggg ggcggcctgg ttcagccggg cggtagctta      60
cgcctgagtt gtgccagtag tggtagtatt tttacaatta atgctatggt ttggtaccgc      120
caggccccgg gcaaacagcg tgaagaagtg gccgcactga ccagcggcgg tagcacaaat      180
agcgccgata gcgtgaaagg tcgttttacc attagtcgca ataatgcaa aaataaccgtt      240
tatcgcttgc gcaatagtct gaaaccgggt gataccgccg tttattatgc caaagccgtt      300
gttgttacca ccaccccgta tgcagattat tgggcacagg ccaccccggt tagtgtgagc      360
agc                                                                           363

```

<210> 70
 <211> 121
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> sintética

 <400> 70

5

```

Met Ala Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro
1              5              10              15

Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ser Ser Gly Ser Ile Phe Thr
                20              25              30

Ile Asn Ala Met Val Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu
                35              40              45

Glu Val Ala Ala Leu Thr Ser Gly Gly Ser Thr Asn Ser Ala Asp Ser
50              55              60

Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asn Asn Ala Lys Asn Thr Val
65              70              75              80

Tyr Arg Leu Arg Asn Ser Leu Lys Pro Val Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
                85              90              95

Ala Lys Ala Val Val Val Thr Thr Thr Pro Tyr Ala Asp Tyr Trp Ala
                100             105             110

Gln Ala Thr Pro Val Ser Val Ser Ser
                115             120

```

10 <210> 71
 <211> 360
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 15 <223> sintética

 <400> 71

ES 2 831 852 T3

atggccgatg ttcagctggt ggaaagcggg ggtggtctgg ttcagccggg tggtagcctg 60
 cgcctgagct gtgctgccag tggcagtatt tttacaatta atgctatggg ttggtaccgt 120
 caggccccgg gtaaacagcg tgaagaagtg gccgccatta ccagcgggtg cagcaccaat 180
 tatgcagata gcgttaaagg tcgttttacc attagtgcgcg ataattgcaa aaataccgtg 240
 tatctgcaga tgaatagcct gaaaccggaa gataccgcag tttattattg taaagcagtg 300
 gtggttacca ccccgatatag cgattattgg ggccagggtg ccctggtgac cgtgagcagt 360

<210> 72

<211> 120

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

<400> 72

Met Ala Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro
 1 5 10 15

Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Phe Thr
 20 25 30

Ile Asn Ala Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu
 35 40 45

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

Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val
 65 70 75 80

Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
 85 90 95

Cys Lys Ala Val Val Val Thr Thr Pro Tyr Ser Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 73

<211> 486

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

<400> 73

ES 2 831 852 T3

atggccgatg tgcagctggt ggaaagcggg ggcggcctgg tgcagcctgg tggttcactg	60
cgcctgagct gcgccgctag cggtagtatt tttaacaatta atgctatggg ttggtaccgt	120
caggccccgg gtaaacagcg tgaagaagtt gccgcaatta ccagtgggtgg cagtaccaat	180
tatgccgata gcgtgaaagg ccgctttacc attagccgcg ataatgcaat gggttggtat	240
cgtcaggcac cgggtaaaca acgtgaagaa gtggcagcaa ttacctcagg cggcagtacc	300
aactatgccg attcagtga aggtcgtttt accattagtc gtgataatgc aaaaaacacc	360
gtttatctgc agatgaatag cctgaaaccg gaagataccg cagtttatta ttgcaaagcc	420
gttgtgggta ccaccacccc gtatagtgat tattgggggtc agggtagcct ggtgaccgtt	480
agtagc	486

<210> 74

<211> 162

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

<400> 74

5

ES 2 831 852 T3

Met Ala Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro
 1 5 10 15

Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Phe Thr
 20 25 30

Ile Asn Ala Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu
 35 40 45

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

Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Met Gly Trp Tyr
 65 70 75 80

Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Glu Val Ala Ala Ile Thr Ser
 85 90 95

Gly Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile
 100 105 110

Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
 115 120 125

Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Lys Ala Val Val Val Thr
 130 135 140

Thr Thr Pro Tyr Ser Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
 145 150 155 160

Ser Ser

<210> 75

<211> 366

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

<400> 75

atggccgatg tgcagctggt ggaaagcggg ggcggctctgg ttcagccggg cggttcactg 60

cgcctgagct gtgcagccag cggctcaatt tttacaatta atgctatggc ttggttccgc 120

caggccccgg gtaaagaacg tgaaattgtg gcagccgtta atggtggcag tagtagcacc 180

tatgtggcag atagcgtgaa aggccgtttt accattagtc gcgataatgc caaaaatacc 240

gtgtatctgc agatgaatag tctgaaaccg gaagataccg ccgtgtatta ttgtaaagcc 300

gtggttggtta ccaccacccc gtatagcgat tattggggcc aggtaccct gggtaccgtt 360

agcagc 366

ES 2 831 852 T3

<210> 76
 <211> 122
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <223> sintética

<400> 76

```

Met Ala Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro
1          5          10          15

Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Phe Thr
          20          25          30

Ile Asn Ala Met Ala Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu
          35          40          45

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

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr
65          70          75          80

Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr
          85          90          95

Tyr Cys Lys Ala Val Val Val Thr Thr Thr Pro Tyr Ser Asp Tyr Trp
          100          105          110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

```

115

120

<210> 77
 <211> 363
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> sintética

<400> 77

```

atggcctacg ttcagctggc cgaaagcggt ggtggtcttg ttcagccggg tggcagctctg      60
attctgagct gtgccgcaag cggcagtatt tgcacctcaa atgctatggg ttggtatcgc      120
ccggccctgt ggaaacagcg cgaagaagtg gccgatatta ccagcgggtg tagcaccaat      180
tatgccgata gcgttaaagg ccgctttacc attagccgtg ataatgcaa aaataccgtt      240
tatctgcaga tgaatagtct gaaaccgaaa gtgaccgcag tttattattg caaagcagtt      300
gttggttacca ccaccccgta tagtgattat tggggtcagg gcaccctggt taccggttagc      360
agt                                              363

```

ES 2 831 852 T3

<210> 78
 <211> 121
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <223> sintética
 <400> 78

```

Met Ala Tyr Val Gln Leu Ala Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro
1          5          10          15

Gly Gly Ser Leu Ile Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Cys Thr
          20          25          30

Ser Asn Ala Met Gly Trp Tyr Arg Pro Ala Leu Trp Lys Gln Arg Glu
          35          40          45

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

Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val
65          70          75          80

Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Lys Val Thr Ala Val Tyr Tyr
          85          90          95

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

          Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
          115          120
  
```

<210> 79
 <211> 365
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> sintética

15 <400> 79

```

atggccgatg ttcagctggt ggaaagcggc ggtggcctgg tgcagcctgg tggtagtctg      60
cgtctgagct gtgccgcaag cggcctgacc ttagtatctc gcgttatggg ttggtttcgc      120
caggcaccgg gcaaagacgt gattttgttg ccgcaattat gtggagcggc ggcgcaacct      180
attatgcaga tagcgtgaaa ggtcgtttta ccattagtcg tgataatgcc aaaaataaccg      240
tgtatctgca gatgaatagt ctgaaaccgg aagataaccgc cgtttattat tgcaaagccg      300
ttgttgttac caccaccccg tatagtgatt attggggcca gggcaccctg gttaccgtta      360
gtagc                                           365
  
```

ES 2 831 852 T3

<210> 80
 <211> 122
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <223> sintética
 <400> 80

```

Met Ala Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro
1          5          10          15

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

Ile Arg Val Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Asp
          35          40          45

Phe Val Ala Ala Ile Met Trp Ser Gly Gly Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
          50          55          60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr
65          70          75          80

Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr
          85          90          95

Tyr Cys Lys Ala Val Val Val Thr Thr Thr Pro Tyr Ser Asp Tyr Trp
          100          105          110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
          115          120
  
```

<210> 81
 <211> 363
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> sintética

15 <400> 81

```

atggccgatg ttcagctggt tgaaagtggc ggtggcctgg tgcagccggg tgggtgtgtca      60
gaaaccctgc tgtgtagtct gtggaaacat ctgcattatc agtgtcatgg ctggtatcgt      120
caggccccgg gcaaacagcg tgaagaagtg gccgccatta ccagtggcgg cagtaccaat      180
tatgccgata gcgttaaagg tcgttttacc attagccgtg ataatgcaaa aaataccgtg      240
tatctgcaga tgaatagcct gaaaccggaa gataccgccg tttattattg caaagcagtg      300
gtggtgacca ccaccccgta tagcgattat tggggccagg gcaccctggt taccgttagc      360
agt                                              363
  
```

ES 2 831 852 T3

<210> 82
 <211> 121
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <223> sintética
 <400> 82

```

Met Ala Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro
1          5          10          15

Gly Gly Val Ser Glu Thr Leu Leu Cys Ser Leu Trp Lys His Leu His
          20          25          30

Tyr Gln Cys His Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu
          35          40          45

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

Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val
65          70          75          80

Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
          85          90          95

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

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
          115          120

```

10 <210> 83
 <211> 444
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> sintética

15 <400> 83

ES 2 831 852 T3

```

atggccgatg tgcagctggt ggaaagtggg ggtggtctgg tgcagccggg tggctcactg      60
cgtctgagtt gcgccgccag cggtagcatt ttacaatta atgctatggg ttggtaccgc      120
caggccccgg gtaaacagcg cgaagaagtt gccgcaatta ccagcgggtgg cagcacaaat      180
aatgctatgg gttggtatcg ccaggcaccg ggtaaacaac gcgaagaagt ggcagcaatt      240
acctcaggcg gcagcaccaa ttatgccgat agcgttaaag gccgctttac cattagtcgc      300
gataatgcca aaaataccgt ttatctgcag atgaatagtc tgaaaccgga agataccgca      360
gtgtattatt gcaaagccgt tgtggttacc accaccccgt atagtgatta ttggggtcag      420
ggcaccctgg ttaccgttag cagc                                         444

```

<210> 84

<211> 148

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

<400> 84

```

Met Ala Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro
1              5              10              15

Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Phe Thr
                20              25              30

Ile Asn Ala Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu
                35              40              45

Glu Val Ala Ala Ile Thr Ser Gly Gly Ser Thr Asn Asn Ala Met Gly
50              55              60

```

ES 2 831 852 T3

Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Glu Val Ala Ala Ile
65 70 75 80

Thr Ser Gly Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe
85 90 95

Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn
100 105 110

Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Lys Ala Val Val
115 120 125

Val Thr Thr Thr Pro Tyr Ser Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
130 135 140

Thr Val Ser Ser
145

<210> 85
<211> 363
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> sintética

<400> 85

atggccgatg ttcagccggt ggaaagcggg gccggcctgg ttcagccggg tggttcactg 60
cgcctgagtt gcgcagccag tgtagtatt tttacaatta atgctatggg ttggtaccgt 120
caggcaccgg gcaaacagcg cgaagaagtt gttgccaata ccagcggcgg tagcaccaat 180
tatgcagata gcgtgaaagg tcgttttacc attagtcgtg ataatgcaaa aaacaccggt 240
tatctgcaga tgaatagcat gaaaccggaa gataccgcag tgtattattg taaagccggt 300
gtggtgacca ccaccagta tagcgattat tggggtcagg gtaccctggt taccgtgagc 360
agc 363

<210> 86
<211> 121
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> sintética

<400> 86

ES 2 831 852 T3

Met Ala Asp Val Gln Pro Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro
1 5 10 15

Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Val Ser Ile Phe Thr
20 25 30

Ile Asn Ala Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu
35 40 45

Glu Val Val Ala Asn Thr Ser Gly Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser
50 55 60

Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val
65 70 75 80

Tyr Leu Gln Met Asn Ser Met Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95

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

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 87
<211> 447
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

5

<220>
<223> sintética

<400> 87

atggccgtgg ttcagctggt tgaaagtggg ggtggcctgg ttcagccggg cggttcactg	60
cgtctgagtt gtgccgcaag tggtagtatt tttacaatta atgctatggg ttggtaccgc	120
caggcaccgg gtaaacagcg tgaagaagtg gccgcaatta ccagtggcgg cagcaccaat	180
tatgcagata gcgttaaagg ccgttttacc attagtcgcg ataatgccaa aaataccggt	240
tatctgcaga tgaatagtct gaaaccggaa gataccgtga aaggccgttt caccattagc	300
cgtgataatg caaaaaataa ggtgtatctg cagatgaacc gtctgaatcc ggaagataca	360
gcagtttatt attgcaaagc agttgtgggtg accaccaccc cgtatagtga ttattggggg	420
cagggtaccc tgggtaccgt tagtagc	447

10 <210> 88
<211> 149
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

15 <220>
<223> sintética

ES 2 831 852 T3

<400> 88

```

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

Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Phe Thr
20           25           30

Ile Asn Ala Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu
35           40           45

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

Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val
65           70           75           80

Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Val Lys Gly Arg
85           90           95

Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Lys Val Tyr Leu Gln Met
100          105          110

Asn Arg Leu Asn Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Lys Ala Val
115          120          125

Val Val Thr Thr Thr Pro Tyr Ser Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
130          135          140

Val Thr Val Ser Ser
145

```

<210> 89

<211> 363

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

<400> 89

```

atggccgatg ttcagctggt ggaaagcggg gccggttagcg ttcagccggg tggtagtctg      60
cgtctgagct gtgcagccag tgccgcgatt tttagtagct atcataaagc atggttccgt      120
caggccccgg gcaaagaacg cgaagaagtt gcagccatta ccagtgggtg cagcaccaat      180
tatgcagata gcgttaaagg ccgttttacc attagccgcg ataatgcaa aaatacogtt      240
tatctgcaga tgaatagcct gaaaccggaa gataccgcag tttattattg taaagccggt      300
gtggtgacca ccaccccgta tagcgattat tggggtcagg gtaccctggt taccgtgagc      360
agt                                              363

```

ES 2 831 852 T3

<210> 90
 <211> 121
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <223> sintética

<400> 90

```

Met Ala Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Pro
1          5          10          15

Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Ala Arg Ile Phe Ser
          20          25          30

Ser Tyr His Lys Ala Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu
          35          40          45

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

Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val
65          70          75          80

Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
          85          90          95

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

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
          115          120

```

10 <210> 91
 <211> 363
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> sintética

15 <400> 91

atggccgatg ttcagctggt ggaaagcggc ggcggcctgg ttcagcctgg tggttcactg 60
 cgtctgagtt gtgcagcaag tggcagcctg tttacaatta atgctatggg ttggtatcgt 120
 caggcaccgg gtaaacagcg cgaagaagtt gccgccatta ccagtggcgg tagcaccaat 180
 tatgccgata gtgttaaagg tcgttttacc tttagtgcgc ataccgcacg caataccgtg 240
 tgcccgcaga tgaatagcct gaaaccggat cataccgccg tgtattattg caaagcactg 300
 gtggttccgc cgaccccgta tagtgtgtat tggggccagg gtaccctggt gaccgtgagc 360
 agc 363

<210> 92
 <211> 121
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> sintética
 <400> 92

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

<210> 93
 <211> 342
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>

ES 2 831 852 T3

<223> sintética

<400> 93

```

atggccgatg tgcagctggt gcagccgggt ggtagcctgc gtctgagctg tgccgccagt      60
ggcagttatt ttacaattaa tgctatgggt tggtagcgcc aggcaccggg taaacagcgt      120
gaagaagttg cagccattac cagcggcggt agcaccaatt atgcagatag cgtgaaaggc      180
cgttttacca ttagtcgtga taatgccaaa aataccgtgt atctgcagat gaatagcctg      240

aaaccggaag ataccgcagt ttattattgc aaagccgttg ttgttaccac caccctgtat      300
agcgattatt ggggtcaggg caccctgggt accggttagca gt                        342

```

<210> 94

<211> 114

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

<400> 94

```

Met Ala Asp Val Gln Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser
1          5          10          15

Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Phe Thr Ile Asn Ala Met Gly Trp Tyr
          20          25          30

Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Glu Val Ala Ala Ile Thr Ser
          35          40          45

Gly Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile
50          55          60

Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
65          70          75          80

Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Lys Ala Val Val Val Thr
          85          90          95

Thr Thr Pro Tyr Ser Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
          100          105          110

Ser Ser

```

<210> 95

<211> 363

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

<400> 95

atggccgatg tgcagctggt tgaaagtggc ggcggtctgg ttcagccggg cggtagctta	60
cgcctgagtt gcgcagcaag tggcagtatt tttacaatta atgctatggg ttggtaccgt	120
caggccccgg gtaaacagcg tgaagaagtg gccgccagta ccagcggcgg tagccctaata	180
tatgatgata gcgttaaagg cccgtttaat ctgagtaaag ataatgcaaa aaacaccgtt	240
tacctgcaga ttaatcgtct gaaaccggaa gataccgccg tgtatttctt taaagcaggc	300
ggtggcagca gtacccccga tagtgattat tggggtcagg gcaccctggt taccgttagt	360
agc	363

<210> 96

<211> 121

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

<400> 96

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

<210> 97

<211> 498

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

<400> 97

atggccgatg ttcagctggt tgaaagcggg ggcggcctgg ttcagccggg tggtagtctg	60
cgcctgagct gcgctgcaag cggtagcatt ttacctcaa atgctatggg ttggtatcgt	120
caggccccgg gcaaacagcg cgaagaagtg gccgcaatta ccagtggcgg cagtaccaat	180
tatgccgata gcgtgaaagg ccgttttacc attagccgcg ataatgcaa aaataaggat	240
atgggttggg accgccaggc accgggtaaa cagcgtgaag aagtggcagc cattaccagc	300
ggcggtagca ccaattatgc ggatagcggt aaaggtcgct ttaccattag tcgtgataat	360
gccaagaata ccgtgtatct gcagatgaat agtctgaaac cggaagatac cgccgtgtat	420
tattgtaaag cagtgggtgg taccaccacc ccgtatagcg attattgggg tcagggtacc	480
ctggtgaccg tgagcagt	498

5

<210> 98

<211> 166

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

10

<220>

<223> sintética

<400> 98

ES 2 831 852 T3

Met Ala Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro
1 5 10 15

Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Phe Thr
20 25 30

Ser Asn Ala Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu
35 40 45

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

Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Lys Asp
65 70 75 80

Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Glu Val Ala
85 90 95

Ala Ile Thr Ser Gly Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
100 105 110

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln
115 120 125

Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Lys Ala
130 135 140

Val Val Val Thr Thr Thr Pro Tyr Ser Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
145 150 155 160

Leu Val Thr Val Ser Ser
165

<210> 99
<211> 414
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> sintética

<400> 99

ES 2 831 852 T3

```

atggccgatg tgcagccggt ggaaagtggg ggcgggtctgg tgcagccggg tggttcactg      60
cgtctgagtt gcgcagccag tggcagcatt tttacaatta atgctatggg ttggtaccgt      120
caggcaccgg gcaaacagcg tgaagaagtt gcagcaatta ccagcggcgg cagtaccaat      180
tatgccgata gtgtgaaagg ccgctttacc attagccgtg ataatgccaa aaataccgtg      240
tatctgcaga tgaatagcct gaaaccggaa gataccgcca aaaatacagt ttatctgaaa      300
atgaacagcc tgaaacctga agaaaccgcc gtgtattatt gcaaagccgt tgttgttacc      360
accaccccggt atagcgatta ttggggccag ggcaccctgg ttaccgtgtg tagc          414

```

<210> 100

<211> 138

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

<400> 100

```

Met Ala Asp Val Gln Pro Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro
1              5              10              15

```

```

Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Phe Thr
20              25              30

```

```

Ile Asn Ala Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu
35              40              45

```

```

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

```

```

Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val
65              70              75              80

```

```

Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Lys Asn Thr
85              90              95

```

```

Val Tyr Leu Lys Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Glu Thr Ala Val Tyr
100             105             110

```

```

Tyr Cys Lys Ala Val Val Val Thr Thr Thr Pro Tyr Ser Asp Tyr Trp
115             120             125

```

```

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Cys Ser
130             135

```

<210> 101

<211> 453

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

<400> 101

```

atggccgatg ttcagctggt tgaaagtggg ggcggcctgg tgcagccggg ttggagctta      60
cgcctgagtt gcgccgcaag tggtagcatt tttacaatta atgctatggg ttggtaccgt      120
caggcaccgg ttaaacagcg tgaagaagtt gccgccatta ccagcgggtg cagcaccaat      180
tatgccgatc cggtgaaagg ttggtatcgt caggcacctg gtaaacagcg tgaggaagtt      240
gccgcgatta ccctgggtgg tagtaccaat tatgcggata gtgtgaaagg ccgctttaat      300
attagtcgtg ataatgcaaa aaacaccggt tatctgcaga tgaatagcct gaaaccggaa      360
gataccgcag tgtattattg taaagcagtg gttgtgacca ccaccccgga agcagattat      420
tggggccagg gcaccctggt gaccgttagt agt                                     453

```

<210> 102

<211> 151

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

<400> 102

```

Met Ala Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro
1           5           10           15

Gly Trp Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Phe Thr
          20           25           30

Ile Asn Ala Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Val Lys Gln Arg Glu
          35           40           45

Glu Val Ala Ala Ile Thr Ser Gly Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Pro

```

ES 2 831 852 T3

50

55

60

Val Lys Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Glu Val
65 70 75 80

Ala Ala Ile Thr Leu Val Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys
85 90 95

Gly Arg Phe Asn Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
100 105 110

Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Lys
115 120 125

Ala Val Val Val Thr Thr Thr Pro Glu Ala Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
130 135 140

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
145 150

<210> 103

<211> 342

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

<400> 103

atggccgatg ttcagctggt ggaaagtggg ggtagcctgc gtctgagttg cgcagccagt 60
ggtagcattt ttacaattaa tgctatgggt tggtagccgc aggcaccggg taaacagcgc 120
gaagaagttg cgcgaattac cagcgggtgg agtaccaatt atgcagatag cgtgaaaggt 180
cgttttacca ttagtcgtga taatgcaaaa aacaccgttt atctgcagat gaatagtctg 240
aaaccggaag ataccgccgt gtattattgc aaagcagttg ttgttaccac caccctgtat 300
agtgattatt ggggtcaggg caccctggtg accgtgagta gt 342

<210> 104

<211> 114

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

<400> 104

ES 2 831 852 T3

Met Ala Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser
1 5 10 15

Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Phe Thr Ile Asn Ala Met Gly Trp Tyr
20 25 30

Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Glu Val Ala Ala Ile Thr Ser
35 40 45

Gly Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile
50 55 60

Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
65 70 75 80

Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Lys Ala Val Val Val Thr
85 90 95

Thr Thr Pro Tyr Ser Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
100 105 110

Ser Ser

<210> 105
<211> 396
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> sintética

<400> 105

atggccgatg ttcagctggt ggaaagcggg ggtggtctgg ttcagccggg tggtagcctg 60
cgcctgagct gtgcagccag tggtagcatt tttacaatta atgctatggg ttggtaccgt 120
caggccccgg gtaaacagcg tgaagaagtg gccgcaatta ccagtgggtg cagtaccaat 180
tatgaagata gcggttaccg tgcgtttacc attagccgcg ataccgttaa aggtcgcttt 240
acaattaccc gtgataatgc aaaaaacacc gtgtatctgc agatgaatag cctgaaaccg 300
gaagataccg cagtttatta ttgtaaagcc gttgttggtta ccaccacccc gtatagcgat 360
tattggggcc agggcaccct ggtgaccgtg tcaagc 396

<210> 106
<211> 132
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> sintética

<400> 106

ES 2 831 852 T3

Met Ala Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro

1 5 10 15

Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Phe Thr
20 25 30

Ile Asn Ala Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu
35 40 45

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

Val Thr Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Thr Val Lys Gly Arg Phe
65 70 75 80

Thr Ile Thr Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn
85 90 95

Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Lys Ala Val Val
100 105 110

Val Thr Thr Thr Pro Tyr Ser Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
115 120 125

Thr Val Ser Ser
130

<210> 107

<211> 363

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

<400> 107

```
atggccgatg tgcagctggt ggaaagcggc ggtggcctgg tgcagcctgg tggttcactg      60
cgctgagtt gtgcagcaag tggtagcatt tttacaatta atgctatggg ttggtaccgc      120
caggccccgg gtaaacagcg cgaagaagtt gccgccatta ccagcgggtg cgcaccaat      180
tatgcagata gtgtgaaagg tcgctttacc attccgcgtg ataatgcacg taataccgtg      240
tatctgcaga tgaatagtct gaatccggaa ggcgccgatg tgtatagctg taaagccggt      300
gttgttacca ccaccccgta tagcgatagt tggggtcagg gtccgctggt gaccgtttat      360
agt                                          363
```

10 <210> 108

<211> 121

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

ES 2 831 852 T3

<220>

<223> sintética

<400> 108

Met Ala Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro
1 5 10 15

Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Phe Thr
20 25 30

Ile Asn Ala Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu
35 40 45

Glu Val Ala Ala Ile Thr Ser Gly Gly Arg Thr Asn Tyr Ala Asp Ser
50 55 60

Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Pro Arg Asp Asn Ala Arg Asn Thr Val
65 70 75 80

Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Asn Pro Glu Gly Ala Asp Val Tyr Ser
85 90 95

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

Gln Gly Pro Leu Val Thr Val Tyr Ser
115 120

5 <210> 109
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> sintética
<400> 109

Ala His His Ser Glu Asp Pro Ser Ser Lys Ala Pro Lys Ala Pro Met
1 5 10 15

Ala

15 <210> 110
<211> 15
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> sintética
<400> 110

20 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
1 5 10 15

<210> 111
<211> 363

<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> sintética

5 <400> 111

```

atggcccagg ttcagctgca agagagcggg gggggcctgg tacagccggg cgggagcttg      60
cgcctgtcct gtgcggcatc aggtaatatc ttttcaatta acgcgattgg atggtaccgc      120
caagccccgg ggaacacagc tgagctggtg gccaccatta ccctctcagg ttccaccaac      180
tacgttgatt ctgtcaaagg gcgcttttagc atttcacgcg acaatgcaaa aaataccgtg      240
tacctgcaaa tgaattctct taaaccagaa gacactgccg tctattattg caacgcgaac      300
acatattcgg acagtgcgt gtatggttat tggggacagg gtacgcaggt caccgtctcg      360
agc                                                                    363

```

<210> 112
<211> 121
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10

<220>
<223> sintética

<400> 112

```

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

Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Asn Ile Phe Ser
20          25          30

Ile Asn Ala Ile Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu
35          40          45

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

Val Lys Gly Arg Phe Ser Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val
65          70          75          80

Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85          90          95

Cys Asn Ala Asn Thr Tyr Ser Asp Ser Asp Val Tyr Gly Tyr Trp Gly
100         105         110

Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115         120

```

15 <210> 113
<211> 45
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

ES 2 831 852 T3

<220>
<223> sintética

<400> 113

gcacaccata gtgaagatcc ctggtccaaa gcccccaaag caccg 45

5 <210> 114
<211> 639
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> sintética

<400> 114

atggcaatca catgcccgcc gccgatgtca gtcgaacatg cggacatttg ggtcaaaagc	60
tactccttat acagtcgcga gcgttatatc tgcaactccg gcttcaagcg caaagcgggc	120
accagttctc tgacggaatg tgtactgaat aaagctacaa atgtggctca ctggacgacc	180
cctagcctga aatgtattcg cgaccgggcc ctggtacatc agcgtccggc gccgccgtca	240
gggggggtccg gtggcggagg ctccggggga ggatctggcg ggggaggtag cttacaaaat	300
tgggtcaacg ttatcagcga tctgaagaaa attgaagact taattcagag catgcacatc	360
gacgccaccc tgtacacgga aagcgatgtg caccatcct gtaaagtcac agccatgaaa	420
tgctttctct tggaacttca ggtaattagc ctggaatccg gtgatgcaag cattcatgat	480
acggtcgaaa atttgattat tcttgcgaa aattctctgt ccagtaatgg gaacgtcacg	540
gaaagcggct gtaaggagtg cgaagaactg gaggagaaaa acattaaaga atttctgcag	600
agcttcgtgc atatcgtgca gatgttcac aacacatca	639

15 <210> 115
<211> 213
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> sintética

<400> 115

ES 2 831 852 T3

Met Ala Ile Thr Cys Pro Pro Pro Met Ser Val Glu His Ala Asp Ile
1 5 10 15

Trp Val Lys Ser Tyr Ser Leu Tyr Ser Arg Glu Arg Tyr Ile Cys Asn
20 25 30

Ser Gly Phe Lys Arg Lys Ala Gly Thr Ser Ser Leu Thr Glu Cys Val
35 40 45

Leu Asn Lys Ala Thr Asn Val Ala His Trp Thr Thr Pro Ser Leu Lys
50 55 60

Cys Ile Arg Asp Pro Ala Leu Val His Gln Arg Pro Ala Pro Pro Ser
65 70 75 80

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
85 90 95

Ser Leu Gln Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu
100 105 110

Asp Leu Ile Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser
115 120 125

Asp Val His Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu
130 135 140

Glu Leu Gln Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp
145 150 155 160

Thr Val Glu Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn
165 170 175

Gly Asn Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu
180 185 190

Lys Asn Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met
195 200 205

Phe Ile Asn Thr Ser
210

<210> 116
<211> 348
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

5

<220>
<223> sintética

<400> 116

ES 2 831 852 T3

```

atggcaaact gggatgaacgt tatcagcgac ctgaagaaaa tcgaggatct gattcagagc      60
atgcacattg acgcgaccct gtacaccgaa agcgatgtgc acccgagctg caaggttacc      120
gcgatgaaat gcttcctgct ggagctgcaa gtgatcagcc tggaaagcgg tgacgcgagc      180
attcacgata ccgttgagaa cctgatcatt ctggcgaaca acagcctgag cagcaacggt      240
aacgtgaccg agagcggctg caaggaatgc gaggaactgg aggaaaagaa catcaaagaa      300
ttcctgcaga gctttgtgca catcggttcaa atgtttatta acaccagc      348

```

<210> 117
 <211> 116
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> sintética
 <400> 117

```

Met Ala Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp
 1              5              10              15

Leu Ile Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp
          20              25              30

Val His Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu
          35              40              45

Leu Gln Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr
 50              55              60

Val Glu Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly
 65              70              75              80

Asn Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys
          85              90              95

Asn Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe
          100              105              110

Ile Asn Thr Ser
          115

```

10 <210> 118
 <211> 408
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223> sintética
 <400> 118

atggcagcgc cgaccagcag cagcaccaag aaaaccagc tgcaactgga acacctgctg 60
ctggacctgc agatgattct gaacggtatc aacaactaca agaaccgaa actgaccctg 120
atgctgacct tcaagtttta tatgccgaag aaagcgaccg agctgaagca cctgcagtgc 180
ctggaggaag agctgaaacc gctggaagag gtgctgaacc tggcgcaaag caagaacttc 240
cacctgcgtc cgcgtgacct gatcagcaac attaacgtga tcgttctgga actgaaaggc 300
agcgaaacca cctttatgtg cgaatacgcg gatgaaaccg cgaccattgt tgaattcctg 360
aaccgttggg tcaccttttg ccaaagcatc attagcaccg tgaccgag 408

<210> 119

<211> 136

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

<400> 119

Met Ala Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu
1 5 10 15

Glu His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn
20 25 30

Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met
35 40 45

Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu
50 55 60

Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe
65 70 75 80

His Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu
85 90 95

Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu
100 105 110

Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln
115 120 125

Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr Glu
130 135

<210> 120

<211> 785

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

<400> 120

```

atggaagtgc aactggtgga gagcggcggg ggtctggtgc aaccgggtcg tagcctgaaa      60
ctgagctgcg cggcgagcgg ctttaccttt agcaactacg atatggcgtg ggttcgtcag      120
gcgccgggata ccaagtgcct ggagtggggtt gcgagcatca gcccgagcgg tgatatcacc      180
tattaccgtg atagcgtgaa aggtcgtttt accgtagacc gtgataacac caaaagcacc      240
ctgtttctgc agatggatag cctgcgtagc gaagataccg cgacctatta ctgcgcgcgt      300
cacggcccga ccgaagcgcc ggatattatg gacgcgtggg gtcaaggcgc gagcgttacc      360
gtgagcagcg gtggtggtgg cagcgggtgtt ggcggtagcg gtggcggtgg tagcggcccg      420
cacatcctgg cgggtgctgga tttctgggac attgtgatga cccaaagccc gagcagcctg      480
gcggttagcg cgggcgaaac cgttaccatc aactgcaaaa gcagccagag cctgctgtac      540
agcggtaacc agaagaacta cctggcgtgg taccagcaaa aaccgggtca gagcccgaag      600
ctgctgatcc actgggcgag caccgcgtca agcggcggtt cggaccgttt cattggcagc      660
ggtagcggca ccgacttcac cctgaccatt agcagcgtgc aagcggagga tctggcgatc      720
tattactgcc agcaatatta cgacagcccg ctgacctttg gtagcgttac caagctggag      780
attaa                                          785

```

5

<210> 121

<211> 262

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> sintética

<400> 121

```

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

Arg Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn
          20           25           30

Tyr Asp Met Ala Trp Val Arg Gln Ala Pro Asp Thr Lys Cys Leu Glu
          35           40           45

Trp Val Ala Ser Ile Ser Pro Ser Gly Asp Ile Thr Tyr Tyr Arg Asp

```

ES 2 831 852 T3

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

<210> 122

<211> 124

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

ES 2 831 852 T3

<400> 122

```

Met Ala Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala
1           5           10           15

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

Asn Tyr Tyr Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu
35           40           45

Phe Val Ala Thr Ile Ser Gln Ser Gly Ser Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp
50           55           60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr
65           70           75           80

Val Ser Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85           90           95

Tyr Cys Ala Gly Asn Ser Phe Lys Ser Asn Asp His Trp Ala Ser Thr
100          105          110

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

```

<210> 123

<211> 372

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

<400> 123

```

atggcgcaag ttcaactgca agaaagcggc ggtggtctgg ttcaagcggg cggtagcctg      60
cgtctgagct gcgcggcgag cggtcgtacc ttcagcaact actatatggg ctggtttcgt      120
caagcgccgg gcaaggagcg tgaattcgtg gcgaccatca gccagagcgg cagcattacc      180
tactatgcgg acagcgttaa gggtcgtttt accatcagcc gtgataacgc gaaaaacacc      240
gtgagcctgc aaatgaacag cctgaagccg gaggacaccg cggtttacta ttgcgcgggc      300
aacagcttca aaagcaacga tcattgggcg agcacctatt ggggccaagg taccaggtg      360
accgtttctt ct                                     372

```

<210> 124

<211> 471

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

ES 2 831 852 T3

<400> 124

aacttcggtc gtctgactg caccaccgcg gttatccgta atatcaatga ccaggttctg	60
ttcgtggaca agcgccagcc ggttttcgaa gatatgaccg acatcgatca gagcgcgagc	120
gaaccgcaaa cccgtctgat tatctacatg tataaggata gcgaagtctg tggctctggcg	180
gttaccctga gcgtgaaaga cagcaagatg agcaccctga gctgcaaaaa caagatcatt	240
agcttcgagg aaatggaccc gccggaaaac atcgacgata tccaaagcga cctgatcttc	300
tttcagaagc gtgttccggg tcacaacaag atggaattcg agagcagcct gtacgaaggt	360
cacttcctgg cgtgccagaa agaggacgat gcgtttaagc tgatcctgaa gaagaaagac	420
gagaatggcg acaagagcgt tatgttcacc ctgaccaacc tgcaccaaag c	471

<210> 125

<211> 157

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

<400> 125

5

ES 2 831 852 T3

Asn Phe Gly Arg Leu His Cys Thr Thr Ala Val Ile Arg Asn Ile Asn
1 5 10 15

Asp Gln Val Leu Phe Val Asp Lys Arg Gln Pro Val Phe Glu Asp Met
20 25 30

Thr Asp Ile Asp Gln Ser Ala Ser Glu Pro Gln Thr Arg Leu Ile Ile
35 40 45

Tyr Met Tyr Lys Asp Ser Glu Val Arg Gly Leu Ala Val Thr Leu Ser
50 55 60

Val Lys Asp Ser Lys Met Ser Thr Leu Ser Cys Lys Asn Lys Ile Ile
65 70 75 80

Ser Phe Glu Glu Met Asp Pro Pro Glu Asn Ile Asp Asp Ile Gln Ser
85 90 95

Asp Leu Ile Phe Phe Gln Lys Arg Val Pro Gly His Asn Lys Met Glu
100 105 110

Phe Glu Ser Ser Leu Tyr Glu Gly His Phe Leu Ala Cys Gln Lys Glu
115 120 125

Asp Asp Ala Phe Lys Leu Ile Leu Lys Lys Lys Asp Glu Asn Gly Asp
130 135 140

Lys Ser Val Met Phe Thr Leu Thr Asn Leu His Gln Ser
145 150 155

<210> 126

<211> 408

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

<400> 126

atggcagcgc cgaccagcag cagcaccaag aaaacccagc tgcaactgga acacctgctg	60
ctggacctgc agatgattct gaacggtatc aacaactaca agaaccgaa actgacctgc	120
atgctgacct tcaagtttta tatgccgaag aaagcgaccg agctgaagca cctgcagtgc	180
ctggaggaag agctgaaacc gctggaagag gtgctgaacc tggcgcaaag caagaacttc	240
cacctgcgtc cgcgtgacct gatcagcaac attaacgtga tcgttctgga actgaaaggc	300
agcgaaacca cctttatgtg cgaatacgcg gatgaaaccg cgaccattgt tgaattcctg	360
aaccgttggg tcacctttgc gcaaagcatc attagcaccg tgaccgag	408

ES 2 831 852 T3

<210> 127
 <211> 136
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <223> sintética
 <400> 127

```

Met Ala Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu
1      5      10      15

Glu His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn
      20      25      30

Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met
      35      40      45

Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu
      50      55      60

Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe
65      70      75      80

His Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu
      85      90      95

Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu
      100      105      110

Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln
      115      120      125

Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr Glu
      130      135

```

10 <210> 128
 <211> 480
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> sintética

15 <400> 128

ES 2 831 852 T3

```

atggcagtgc gtagcagcag ccgtaccccg agcgacaagc cggttgcgca tgtggttgcg      60
aaccgcgagg cggagggtca gctgcaatgg ctgaaccgctc gtgcgaacgc gctgctggcg      120
aacggtgtgg aactgcgtga taaccaactg gtggttccga gcgagggcct gtacctgac      180
tatagccagg tgctgttcaa aggtcaaggc tgcccagagca cccacgttct gctgaccac      240
accatcagcc gtattgcggt gagctaccag accaaggtta acctgctgag cgcgattaaa      300
agcccggtgcc aacgtgaaac cccggagggt gcggaggcga agccgtggta cgaaccgatc      360
tatctgggtg gcgtgtttca gctggaaaaa ggcgaccgctc tgagcgcgga gattaaccgt      420
ccggactacc tggatttcgc ggagagcggc caagtttatt ttggcatcat tgcgctggag      480

```

<210> 129

<211> 160

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

<400> 129

```

Met Ala Val Arg Ser Ser Ser Arg Thr Pro Ser Asp Lys Pro Val Ala
1          5          10          15

```

```

His Val Val Ala Asn Pro Gln Ala Glu Gly Gln Leu Gln Trp Leu Asn
20          25          30

```

```

Arg Arg Ala Asn Ala Leu Leu Ala Asn Gly Val Glu Leu Arg Asp Asn
35          40          45

```

```

Gln Leu Val Val Pro Ser Glu Gly Leu Tyr Leu Ile Tyr Ser Gln Val
50          55          60

```

```

Leu Phe Lys Gly Gln Gly Cys Pro Ser Thr His Val Leu Leu Thr His
65          70          75          80

```

```

Thr Ile Ser Arg Ile Ala Val Ser Tyr Gln Thr Lys Val Asn Leu Leu
85          90          95

```

```

Ser Ala Ile Lys Ser Pro Cys Gln Arg Glu Thr Pro Glu Gly Ala Glu
100          105          110

```

```

Ala Lys Pro Trp Tyr Glu Pro Ile Tyr Leu Gly Gly Val Phe Gln Leu
115          120          125

```

```

Glu Lys Gly Asp Arg Leu Ser Ala Glu Ile Asn Arg Pro Asp Tyr Leu
130          135          140

```

```

Asp Phe Ala Glu Ser Gly Gln Val Tyr Phe Gly Ile Ile Ala Leu Glu
145          150          155          160

```

5

10

<210> 130
 <211> 465
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> sintética

<400> 130

atggcagact gcgatatcga gggcaaggac ggcaaacagt acgaaagcgt gctgatggtt	60
agcatcgacc aactgctgga tagcatgaag gagattggta gcaactgcct gaacaacgaa	120
ttcaacttct ttaagcgtca catttgcgat gcgaacaaag agggcatggt cctgtttcgt	180
gcgggcgcgt agctgcgtca gttcctgaaa atgaacagca ccggtgactt tgatctgcac	240
ctgctgaagg tgagcgaagg caccaccatc ctgctgaact gcaccgggtca ggttaaaggt	300
cgtaaaccgg cggcgctggg cgaggcgcaa ccgacaaaaa gcctggagga aaacaagagc	360
ctgaaagaac agaagaaact gaacgacctg tgctttctga agcgtctgct gcaagagatc	420
aagacctgct ggaacaaaat tctgatgggc accaaagaac acgag	465

10

<210> 131
 <211> 155
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> sintética

15

<400> 131

ES 2 831 852 T3

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

<210> 132

<211> 381

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

<400> 132

atggcacagg gtccggaccg tctgctgac cgtctgcgtc acctgatcga tattgtggag	60
caactgaaaa ttacgaaaa cgacctggat ccggagctgc tgagcgcgcc gcaggacgtt	120
aagggtcact gcgaacacgc ggcgttcgcg tgctttcaaa aggcgaaact gaagccgagc	180
aaccggggca acaacaaaac cttcatcatt gacctggttg cgcagctgcg tcgtcgtctg	240
ccggcgcgtc gtggtggcaa gaaacaaaaa cacatcgcga agtgcccag ctgcgatagc	300
tatgagaaac gtaccccgaa ggagtttctg gaacgtctga aatggctgct gcagaagatg	360
attcaccaac acctgagcga g	381

ES 2 831 852 T3

<210> 133
 <211> 127
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <223> sintética
 <400> 133

```

Met  Ala  Gln  Gly  Pro  Asp  Arg  Leu  Leu  Ile  Arg  Leu  Arg  His  Leu  Ile
1      5      10      15

Asp  Ile  Val  Glu  Gln  Leu  Lys  Ile  Tyr  Glu  Asn  Asp  Leu  Asp  Pro  Glu
      20      25      30

Leu  Leu  Ser  Ala  Pro  Gln  Asp  Val  Lys  Gly  His  Cys  Glu  His  Ala  Ala
      35      40      45

Phe  Ala  Cys  Phe  Gln  Lys  Ala  Lys  Leu  Lys  Pro  Ser  Asn  Pro  Gly  Asn
      50      55      60

Asn  Lys  Thr  Phe  Ile  Ile  Asp  Leu  Val  Ala  Gln  Leu  Arg  Arg  Arg  Leu
65      70      75      80

Pro  Ala  Arg  Arg  Gly  Gly  Lys  Lys  Gln  Lys  His  Ile  Ala  Lys  Cys  Pro
      85      90      95

Ser  Cys  Asp  Ser  Tyr  Glu  Lys  Arg  Thr  Pro  Lys  Glu  Phe  Leu  Glu  Arg
      100      105      110

Leu  Lys  Trp  Leu  Leu  Gln  Lys  Met  Ile  His  Gln  His  Leu  Ser  Glu
      115      120      125

```

10 <210> 134
 <211> 507
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> sintética
 15 <400> 134

ES 2 831 852 T3

atggcatgcg acctgccgca gaccacaaac ctgcgtaaca agcgtgcgct gaccctgctg	60
gtgcaaattgc gtcgtctgag cccgctgagc tgcctgaagg accgtaaaga tttcggtttt	120
ccgcaggaga aggtggacgc gcagcaaadc aagaaagcgc aagcgattcc ggttctgagc	180
gaactgaccc agcaaadcct gaacattttc accagcaaag atagcagcgc ggcgtggaac	240
accaccctgc tggacagctt ttgcaacgat ctgcaccagc aactgaacga cctgcagggt	300
tgcctgatgc agcaagtggg cgttcaggag tttccgctga cccaagaaga tgcgctgctg	360
gcggtgcgta agtactttca ccgtatcacc gtttatctgc gtgagaagaa acacagcccg	420
tgcgcgtggg aagtggttcg tgcggaagtg tggcgtgcgc tgagcagcag cgcgaacgtt	480
ctgggccgctc tgcgtgagga aaaagag	507

<210> 135

<211> 167

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

<400> 135

5

ES 2 831 852 T3

Met Ala Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Asn Leu Arg Asn Lys Arg Ala
1 5 10 15

Leu Thr Leu Leu Val Gln Met Arg Arg Leu Ser Pro Leu Ser Cys Leu
20 25 30

Lys Asp Arg Lys Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Lys Val Asp Ala Gln
35 40 45

Gln Ile Lys Lys Ala Gln Ala Ile Pro Val Leu Ser Glu Leu Thr Gln
50 55 60

Gln Ile Leu Asn Ile Phe Thr Ser Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asn
65 70 75 80

Thr Thr Leu Leu Asp Ser Phe Cys Asn Asp Leu His Gln Gln Leu Asn
85 90 95

Asp Leu Gln Gly Cys Leu Met Gln Gln Val Gly Val Gln Glu Phe Pro
100 105 110

Leu Thr Gln Glu Asp Ala Leu Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe His Arg
115 120 125

Ile Thr Val Tyr Leu Arg Glu Lys Lys His Ser Pro Cys Ala Trp Glu
130 135 140

Val Val Arg Ala Glu Val Trp Arg Ala Leu Ser Ser Ser Ala Asn Val
145 150 155 160

Leu Gly Arg Leu Arg Glu Glu
165

<210> 136

<211> 411

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

<400> 136

ES 2 831 852 T3

atggccatcg tgaagcgagg taccaccatt ccgcgtaacc cgggctgccc gaacagcgaa 60
gataagaact ttccgcgtac cgtgatgggt aacctgaaca ttcacaaccg taacaccaac 120
accaacccga aacgtagcag cgactactat aaccgtagca ccagcccgtg gaacctgcac 180
cgtaacgagg atccggaacg ttacccgagc gtgatctggg aggcgaagtg ccgtcacctg 240
ggttgcatta acgcgagcgg caacgtggat tatcacatga acagcgttcc gatccagcaa 300
gagattctgg ttctgcgtcg tgaaccgccg cactgcccga acagcttccg tctggaaaaa 360
attctgggta gcgttggttg cacctgcgtg accccgattg ttcacatgt g 411

<210> 137

<211> 137

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

<400> 137

Met Ala Ile Val Lys Ala Gly Ile Thr Ile Pro Arg Asn Pro Gly Cys
1 5 10 15

Pro Asn Ser Glu Asp Lys Asn Phe Pro Arg Thr Val Met Val Asn Leu
20 25 30

Asn Ile His Asn Arg Asn Thr Asn Thr Asn Pro Lys Arg Ser Ser Asp
35 40 45

Tyr Tyr Asn Arg Ser Thr Ser Pro Trp Asn Leu His Arg Asn Glu Asp
50 55 60

Pro Glu Arg Tyr Pro Ser Val Ile Trp Glu Ala Lys Cys Arg His Leu
65 70 75 80

Gly Cys Ile Asn Ala Asp Gly Asn Val Asp Tyr His Met Asn Ser Val
85 90 95

Pro Ile Gln Gln Glu Ile Leu Val Leu Arg Arg Glu Pro Pro His Cys
100 105 110

Pro Asn Ser Phe Arg Leu Glu Lys Ile Leu Val Ser Val Gly Cys Thr

115

120

125

Cys Val Thr Pro Ile Val His His Val
130 135

10

<210> 138

<211> 756
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

5 <220>
<223> sintética

<400> 138

atggcccagg ttcagctgca agagagcggg gggggcctgg tacagccggg cgggagcttg	60
cgcctgtcct gtgcggcatc aggtaatatc ttttcaatta acgcgattgg atggtaccgc	120
caagccccgg ggaaacagcg tgagctgggt gccaccatta ccctctcagg ttccaccaac	180
tacgttgatt ctgtcaaagg gcgctttagc atttcacgcg acaatgcaaa aaataccgtg	240
tacctgcaaa tgaattctct taaaccagaa gacactgccg tctattattg caacgcgaac	300
acatattcgg acagtgcgt gtatggttat tggggacagg gtacgcagg caccgtctcg	360
agcgcacacc atagtgaaga tccctcgtcc aaagccccca aagcaccgat ggcaaactgg	420
gtgaacgtta tcagcgacct gaagaaaatc gaggatctga ttcagagcat gcacattgac	480
gcgacctgt acaccgaaag cgatgtgcac ccgagctgca aggttaccgc gatgaaatgc	540
ttcctgctgg agctgcaagt gatcagcctg gaaagcgggt acgcgagcat tcacgatacc	600
gttgagaacc tgatcattct ggcgaaacaac agcctgagca gcaacggtaa cgtgaccgag	660
agcggctgca aggaatgcga ggaactggag gaaaagaaca tcaaagaatt cctgcagagc	720
tttgtgcaca tcgttcaa at gtttattaac accagc	756

<210> 139
<211> 816
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> sintética

<400> 139

atggcccagg ttcagctgca agagagcggg gggggcctgg tacagccggg cgggagcttg	60
cgcctgtcct gtgcggcatc aggtaatatc ttttcaatta acgcgattgg atggtaccgc	120
caagccccgg ggaaacagcg tgagctgggt gccaccatta ccctctcagg ttccaccaac	180
tacgttgatt ctgtcaaagg gcgctttagc atttcacgcg acaatgcaaa aaataccgtg	240
tacctgcaaa tgaattctct taaaccagaa gacactgccg tctattattg caacgcgaac	300
acatattcgg acagtgcgt gtatggttat tggggacagg gtacgcagg caccgtctcg	360

15

ES 2 831 852 T3

```

agcgcacacc atagtgaaga tccctcgtcc aaagccccc aagcaccgat ggcagcgccg      420
accagcagca gcaccaagaa aaccagctg caactggaac acctgctgct ggacctgcag      480
atgattctga acggtatcaa caactacaag aaccgaaac tgaccgtat gctgaccttc      540
aagttttata tgccgaagaa agcgaccgag ctgaagcacc tgcagtgcct ggaggaagag      600
ctgaaaccgc tggaagaggt gctgaacctg gcgcaaagca agaacttcca cctgcgtccg      660
cgtgacctga tcagcaacat taacgtgatc gttctggaac tgaaaggcag cgaaaccacc      720
tttatgtgcg aatacgcgga tgaaaccgcg accattgttg aattcctgaa ccgttgatc      780
accttttgcc aaagcatcat tagcaccctg accgag      816

```

<210> 140

<211> 1491

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

<400> 140

5

ES 2 831 852 T3

atggaagtgc aactggtgga gagcggcgggt ggtctggtgc aaccgggtcg tagcctgaaa	60
ctgagctgcg cggcgagcgg ctttaccttt agcaactacg atatggcgtg ggttcgtcag	120
gcgccggata ccaagtgcct ggagtggtt gcgagcatca gcccgagcgg tgatatcacc	180
tattaccgtg atagcgtgaa aggtcgtttt accgttagcc gtgataaacac caaaagcacc	240
ctgtttctgc agatggatag cctgcgtagc gaagataccg cgacctatta ctgcgcgcgt	300
cacggcccga ccgaagcgcc ggatattatg gacgcgtggg gtcaaggcgc gagcgttacc	360
gtgagcagcg gtggtggtgg cagcgggtgtt ggcggtagcg gtggcgggtg tagcggcccg	420
cacatcctgg cgggtgctgga tttctgggac attgtgatga cccaaagccc gagcagcctg	480
gcggttagcg cgggcgaaac cgttaccatc aactgcaaaa gcagccagag cctgctgtac	540
agcggtaacc agaagaacta cctggcgtgg taccagcaaa aaccgggtca gagcccgaag	600
ctgctgatcc actgggcgag caccctcaa agcggcgttc cggaccgttt cattggcagc	660
ggtagcggca ccgacttcac cctgaccatt agcagcgtgc aagcggagga tctggcgatc	720
tattactgcc agcaatatta cgacagcccg ctgacctttg gtagcggtag caagctggag	780
attaagcgtc tggaaggtgg cggcggcagc ggcggcgggtg gcagcgggtg cggcggtagc	840
ccgaaggcgc cgatggcgat cacctgcccg ccgccgatga gcgtggaaca cgcggacatt	900
tgggtgaaga gctacagcct gtacagccgt gaacgttaca tctgcaacag cggtttcaag	960
cgtaaagcgg gtaccagcag cctgaccgaa tgcgtgctga acaaagcgac caacgttgcg	1020
cactggacca ccccgagcct gaaatgcac cgtgaccgg cgctggttca ccagcgtccg	1080
gcgccgccga gcggtggtag cggcggcggc ggtagcggcg gtggcagcgg cggtggtggt	1140
agcctgcaaa actgggttaa cgtgatcagc gatctgaaga aaatcgaaga cctgattcag	1200
agcatgcaca tcgacgcgac cctgtacacc gaaagcgacg ttcacccgag ctgcaaggtt	1260
accgcgatga agtgcttcct gctggaactg caagttatca gcctggaaag cggcgacgcg	1320
agcattcacg acaccgttga gaacctgatc attctggcga acaacagcct gagcagcaac	1380
ggcaacgtta ccgaaagcgg ttgcaaagag tgcgaggaac tggaggaaaa gaatatcaaa	1440
gagtttctgc aaagcttcgt tcacatcgtt caaatgttca tcaataccag c	1491

<210> 141

<211> 1056

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

<400> 141

atggcgcaag ttcaactgca agaaagcggc ggtggtctgg ttcaagcggg cggtagcctg	60
cgtctgagct gcgcggcgag cggtcgtacc ttcagcaact actatatggg ctggtttcgt	120
caagcgccgg gcaaggagcg tgaattcgtg gcgaccatca gccagagcgg cagcattacc	180
tactatgcgg acagcgtaa gggtcgtttt accatcagcc gtgataacgc gaaaaacacc	240
gtgagcctgc aaatgaacag cctgaagccg gaggacaccg cggtttacta ttgcgcgggc	300
aacagcttca aaagcaacga tcattgggcg agcacctatt ggggccaaagg taccaggtg	360
accgtttctt ctgcacacca tagtgaagat ccctcgtcca aagcccccaa agcaccgatg	420
gcaatcacat gcccgccgcc gatgtcagtc gaacatgcgg acatttgggt caaaagctac	480
tccttatata gtcgcgagcg ttatatctgc aactccggct tcaagcgcaa agcgggcacc	540
agttctctga cggaatgtgt actgaataaa gctacaaatg tggtcactg gacgaccct	600
agcctgaaat gtattcgcga cccggccctg gtacatcagc gtccggcgcc gccgtcagg	660
gggtccggtg gcggaggctc cgggggagga tctggcgggg gaggtagctt aaaaaattgg	720
gtcaacgtta tcagcgatct gaagaaaatt gaagacttaa ttcagagcat gcacatcgac	780
gccaccctgt acacggaaag cgatgtgcac ccacctgtgta aagtcacagc catgaaatgc	840
tttctcttgg aacttcaggt aattagcctg gaatccggtg atgcaagcat tcatgatacg	900
gtcgaaaatt tgattattct tgcgaacaat tctctgtcca gtaatgggaa cgtcacggaa	960
agcggctgta aggagtgcga agaactggag gagaaaaaca ttaaagaatt tctgcagagc	1020
ttcgtgcata tcgtgcagat gttcatcaac acatca	1056

<210> 142

<211> 825

<212> **ADN**

<213> **Secuencia artificial**

<220>

<223> sintética

<400> 142

ES 2 831 852 T3

atggcgcaag ttcaactgca agaaagcggc ggtggtctgg ttcaagcggg cggtagcctg	60
cgtctgagct gcgcggcgag cggtcgtacc ttcagcaact actatatggg ctggtttcgt	120
caagcgccgg gcaaggagcg tgaattcgtg gcgaccatca gccagagcgg cagcattacc	180
tactatgcgg acagcgttaa gggtcgtttt accatcagcc gtgataacgc gaaaaacacc	240
gtgagcctgc aaatgaacag cctgaagccg gaggacaccg cggtttacta ttgcgcgggc	300
aacagcttca aaagcaacga tcattgggcg agcacctatt ggggccaaag taccaggtg	360
accgtttctt ctgcacacca tagtgaagat ccctcgtcca aagcccccaa agcaccgatg	420
gcagcgccga ccagcagcag caccaagaaa acccagctgc aactggaaca cctgctgctg	480
gacctgcaga tgattctgaa cggatatcaac aactacaaga acccgaaact gacccgatg	540
ctgaccttca agttttatat gccgaagaaa gcgaccgagc tgaagcacct gcagtgcctg	600
gaggaagagc tgaaaccgct ggaagagggt ctgaacctgg cgcaaagcaa gaacttccac	660
ctgcgtccgc gtgacctgat cagcaacatt aacgtgatcg ttctggaact gaaaggcagc	720
gaaaccacct ttatgtgcga atacgcggat gaaaccgcga ccattgttga attcctgaac	780
cgttgatca ccttttgcca aagcatcatt agcacctga ccgag	825

<210> 143

<211> 1047

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

<400> 143

atggccgatg ttcagctggt tgaaagcggc ggcggtctgg tgcagccggg tggtagctta	60
cgtctgagct gcgcagccag tggtagtatt tttacaatta atgctatggg ttggtaccgt	120
caggcaccgg gcaaacagcg cgaagaagtt gcagcaatta ccagcgggtg tagtaccaat	180
tatgccgata gcgtgaaagg tcgttttacc attagtcgcg ataatgcaaa aaataccgtt	240
tatctgcaga tgaatagcct gaaaccggaa gataccgcag tttattattg caaagccgtt	300
gtggtgacca ccaccccgta tagtgattat tggggtcagg gcaccctggt taccgttagc	360
agtgcacacc atagtgaaga tccctcgtcc aaagcccca aagcaccgat ggcaatcaca	420
tgcccgcgc cgatgtcagt cgaacatgcg gacatttggg tcaaaagcta ctccttatac	480
agtcgcgagc gttatatctg caactccggc ttcaagcgca aagcgggcac cagttctctg	540

ES 2 831 852 T3

acggaatgtg tactgaataa agctacaaat gtggctcact ggacgacccc tagcctgaaa 600
 tgtattcgcg acccggccct ggtacatcag cgtccggcgc cgccgtcagg ggggtccggt 660
 ggcggaggct cggggggagg atctggcggg ggaggtagct tacaaaattg ggtcaacggt 720
 atcagcgatc tgaagaaaat tgaagactta attcagagca tgcacatcga cgccaccctg 780
 tacacggaaa gcgatgtgca cccatcctgt aaagtcacag ccatgaaatg ctttctcttg 840
 gaacttcagg taattagcct ggaatccggt gatgcaagca ttcattgatac ggtcgaaaat 900
 ttgattattc ttgcgaacaa ttctctgtcc agtaatggga acgtcacgga aagcggctgt 960
 aaggagtgcg aagaactgga ggagaaaaac attaaagaat ttctgcagag cttcgtgcat 1020
 atcgtgcaga tgttcatcaa cacatca 1047

<210> 144

<211> 756

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

<400> 144

atggccgatg ttcagctggt tgaaagcggc ggcggtctgg tgcagccggg tggtagctta 60
 cgtctgagct ggcagaccag tggtagtatt tttacaatta atgctatggg ttggtaccgt 120
 caggcaccgg gcaaacagcg cgaagaagtt gcagcaatta ccagcgggtg tagtaccaat 180
 tatgccgata gcgtagaaag tcgttttacc attagtcgcg ataatagcaa aaataaccgtt 240
 tatctgcaga tgaatagcct gaaaccggaa gataccgcag tttattattg caaagccgtt 300
 gtggtgacca ccaccccgta tagtgattat tggggtcagg gcaccctggt taccgttagc 360
 agtgcacacc atagtgaaga tccctcgtcc aaagcccca aagcaccgat ggcaaactgg 420
 gtgaacgcta tcagcgacct gaagaaaatc gaggatctga ttcagagcat gcacattgac 480
 gcgaccctgt acaccgaaag cgatgtgcac ccgagctgca aggttaccgc gatgaaatgc 540
 ttcctgctgg agctgcaagt gatcagcctg gaaagcgggtg acgcgagcat tcacgatacc 600
 gttgagaacc tgatcattct ggcaacaac agcctgagca gcaacggtaa cgtgaccgag 660
 agcggctgca aggaatgcga ggaactggag gaaaagaaca tcaaagaatt cctgcagagc 720
 tttgtgcaca tcgttcaaatt gtttattaac accagc 756

<210> 145

<211> 816

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

<400> 145

ES 2 831 852 T3

atggccgatg ttcagctggt tgaaagcggc ggcggtctgg tgcagccggg tggtagctta 60
cgtctgagct gcgcagccag tggtagtatt tttaacaatta atgctatggg ttggtaccgt 120
caggcaccgg gcaaacagcg cgaagaagtt gcagcaatta ccagcgggtg tagtaccaat 180
tatgccgata gcgtgaaagg tcgttttacc attagtgcgc ataatgcaaa aaataccggt 240
tatctgcaga tgaatagcct gaaaccggaa gataccgcag ttattatttg caaagccggt 300
gtggtgacca ccaccccgta tagtgattat tggggtcagg gcaccctggt taccgttagc 360
agtgcacacc atagtgaaga tccctcgtcc aaagccccca aagcaccgat ggcagcgccg 420
accagcagca gcaccaagaa aaccagctg caactggaac acctgctgct ggacctgcag 480
atgattctga acggtatcaa caactacaag aaccggaaac tgaccctgat gctgaccttc 540
aagttttata tgccgaagaa agcgaccgag ctgaagcacc tgcagtgcct ggaggaagag 600
ctgaaaccgc tggaagaggt gctgaacctg gcgcaaagca agaacttcca cctgcgtccg 660
cgtgacctga tcagcaacat taacgtgatc gttctggaac tgaaaggcag cgaaaccacc 720
tttatgtgcg aatacgcgga tgaaaccgcg accattgttg aattcctgaa ccgttggatc 780
accttttgcc aaagcatcat tagcaccctg accgag 816

<210> 146
<211> 16
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*
<400> 146

Ser Pro Ser Thr Pro Pro Thr Pro Ser Pro Ser Thr Pro Pro Ala Ser
1 5 10 15

<210> 147
<211> 23
<212> ADN
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> sintética
<400> 147

gtcctggctg ctctctaca agg 23

<210> 148
<211> 23
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> sintética
<400> 148

ggtacgtgct gttgaactgt tcc 23

<210> 149
<211> 29
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

ES 2 831 852 T3

<220>
 <223> sintética

 <400> 149
 gatgtgcagc tgcaggagtc tggrggagg 29

 5 <210> 150
 <211> 32
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 10 <220>
 <223> sintética

 <400> 150
 ctagtgcggc cgctggagac ggtgacctgg gt 32

 15 <210> 151
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> sintética

 <400> 151

 Met Lys Ser Leu Leu Pro Thr Ala Ala Ala Gly Leu Leu Leu Leu Ala
 1 5 10 15

 Ala Gln Pro Ala
 20 20

 <210> 152
 <211> 879
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 25 <220>
 <223> sintética

 <400> 152

ES 2 831 852 T3

atggccgatg ttcagctggt tgaaagcggc ggcggctctgg tgcagccggg tggtagctta	60
cgtctgagct gcgcagccag tggtagtatt tttacaatta atgctatggg ttggtaccgt	120
caggcaccgg gcaaacagcg cgaagaagtt gcagcaatta ccagcgggtg tagtaccaat	180
tatgccgata gcgtgaaag tcgttttacc attagtcgcg ataatgcaa aaataccgtt	240
tatctgcaga tgaatagcct gaaaccggaa gataccgcag tttattattg caaagccgtt	300
gtggtgacca ccaccccgta tagtgattat tggggtcagg gcaccctggt taccgttagc	360
agtgcacacc atagtgaaga tccctcgtcc aaagccccc aagcaccgta cttcgaaag	420
ctggagtcaa aacttagcgt catccgcaac ctgaatgacc aagttttatt cattgatcaa	480
ggaaatcgcc ctctgtttga agacatgacc gatagtgact gtcgcgataa cgcgctcgt	540
acaatcttta tcatcagcat gtataaagat tcgcaacctc gtggcatggc cgtgaccatc	600
tctgtaaaat gcgagaaaat ctcgacactt agctgtgaga ataagatcat ctcatc aaa	660
gaaatgaatc cgcccgacaa cattaaggac accaaaagcg acattat ttt cttccaacgc	720
tcagtaccgg gccatgataa taagatgcag ttcgagagta gctcatacga agggat tttt	780
ctggcatgtg aaaaggaacg tgattttattc aagttgattc tgaagaaaga ggatgaatta	840
ggagaccgca gcattatggt cacagtccag aatgaggac	879

<210> 153

<211> 873

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

<400> 153

atggccgatg ttcagctggt tgaaagcggc ggcggtctgg tgcagccggg tggtagctta	60
cgtctgagct gcgcagccag tggtagtatt tttacaatta atgctatggg ttggtaccgt	120
caggcaccgg gcaaacagcg cgaagaagtt gcagcaatta ccagcgggtg tagtaccaat	180
tatgccgata gcgtgaaagg tcgttttacc attagtcgcg ataatgcaa aaataccgtt	240
tatctgcaga tgaatagcct gaaaccggaa gataccgcag tttattattg caaagccgtt	300
gtggtgacca ccaccccgta tagtgattat tggggtcagg gcaccctggt taccgttagc	360
agtgcacacc atagtgaaga tccctcgtcc aaagcccca aagcaccgat ggcagactgc	420
gatatcgagg gcaaggacgg caaacgtac gaaagcgtgc tgatgggttag catcgaccaa	480
ctgctggata gcatgaagga gattggtagc aactgcctga acaacgaatt caacttcttt	540
aagcgtcaca tttgcgatgc gaacaaagag ggcattgtcc tgtttcgtgc ggcgcgtaag	600
ctgcgtcagt tcctgaaaat gaacagcacc ggtgactttg atctgcacct gctgaagggtg	660
agcgaaggca ccaccatcct gctgaactgc accggtcagg ttaaagggtcg taaaccggcg	720
gcgctgggcg aggcgcaacc gacaaaagc ctggaggaaa acaagagcct gaaagaacag	780
aagaaactga acgacctgtg ctttctgaag cgtctgctgc aagagatcaa gacctgctgg	840
aacaaaattc tgatgggcac caaagaacac gag	873

<210> 154

<211> 888

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

<400> 154

5

ES 2 831 852 T3

atggccgatg ttcagctggt tgaaagcggc ggcggtctgg tgcagccggg tggtagctta	60
cgtctgagct gcgcagccag tggtagtatt tttacaatta atgctatggg ttggtaccgt	120
caggcaccgg gcaaacagcg cgaagaagtt gcagcaatta ccagcgggtg tagtaccaat	180
tatgccgata gcgtgaaagg tcgttttacc attagtgcgc ataatgcaa aaataaccgtt	240
tatctgcaga tgaatagcct gaaaccggaa gataccgcag tttattattg caaagccgtt	300
gtggtgacca ccaccccgta tagtgattat tggggtcagg gcaccctggt taccgttagc	360
agtgcacacc atagtgaaga tccctcgtcc aaagccccca aagcaccgat ggcagtgcgt	420
agcagcagcc gtaccccgag cgacaagccg gttgcgcag tggttgcgaa cccgcaggcg	480
gagggtcagc tgcaatggct gaaccgtcgt gcgaacgcgc tgctggcgaa cgggtgtggaa	540
ctgcgtgata accaactggt ggttccgagc gagggcctgt acctgatcta tagccagggtg	600
ctgttcaaag gtcaaggctg cccgagcacc cacgttctgc tgaccacac catcagccgt	660
attgcggtga gctaccagac caaggttaac ctgctgagcg cgattaaaag cccgtgccaa	720
cgtgaaaccc cggaggggtgc ggaggcgaag ccgtggtacg aaccgatcta tctgggtggc	780
gtgtttcagc tggaaaaagg cgaccgtctg agcgcggaga ttaaccgtcc ggactacctg	840
gatttcgcgg agagcgggtca agtttatttt ggcattcattg cgctggag	888

<210> 155

<211> 903

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

<400> 155

atggccgatg ttcagctggt tgaaagcggc ggcggtctgg tgcagccggg tggtagctta	60
cgtctgagct gcgcagccag tggtagtatt tttacaatta atgctatggg ttggtaccgt	120
caggcaccgg gcaaacagcg cgaagaagtt gcagcaatta ccagcgggtg tagtaccaat	180
tatgccgata gcgtgaaagg tcgttttacc attagtgcgc ataatgcaa aaataaccgtt	240
tatctgcaga tgaatagcct gaaaccggaa gataccgcag tttattattg caaagccgtt	300
gtggtgacca ccaccccgta tagtgattat tggggtcagg gcaccctggt taccgttagc	360
agtgcacacc atagtgaaga tccctcgtcc aaagccccca aagcaccgtg cgaccttccg	420
caaaccatt cgtaggggtc ccgccgtact cttatgctgc ttgctcagat gcgtaagatt	480

ES 2 831 852 T3

tccctgttca gttgccttaa ggaccgtcac gatttttggtt ttcctcagga ggagtttgga	540
aaccagtttc agaaagcaga aacgattcca gtcctgcatg agatgatcca gcaaattttc	600
aacctgtttt cgactaagga ctccagtgcg gcatgggacg agactttggt ggacaaat	660
tatacggagc tgtatcaaca attgaatgat ctggaggctt gcgttattca aggcgtcggg	720
gtgacggaga ctccgctgat gaaagaggac tcaatttttag cagtgcgtaa atattttcaa	780
cgtattacac tgtatttgaa ggaaaagaaa tactcaccgt gtgcctggga ggtggtacgt	840
gccgagatca tgcgttcttt ctgctgtctt accaaccttc aggaaagctt gcgtagcaag	900
gag	903

<210> 156

<211> 804

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

<400> 156

atggccgatg ttcagctggt tgaaagcggc ggcggctctgg tgcagccggg tggtagctta	60
cgtctgagct ggcgagccag tggtagtatt tttacaatta atgctatggg ttggtaccgt	120
caggcaccgg gcaaacagcg cgaagaagtt gcagcaatta ccagcgggtg tagtaccaat	180
tatgccgata gcgtgaaagg tcgttttacc attagtcgcg ataatgcaaa aaataccgtt	240
tatctgcaga tgaatagcct gaaaccggaa gataccgcag tttattattg caaagccgtt	300
gtggtgacca ccaccccgta tagtgattat tggggtcagg gcaccctggt taccgttagc	360
agtgcacacc atagtgaaga tccctcgtcc aaagccccc aagcaccgat gcaagaccgc	420
cacatgatcc gcatgcgcca attgattgac attgtagatc agttgaagaa ttacgtgaac	480
gatcttgtgc ctgagttcct gccggctccg gaggatgtag aaaccaattg cgaatggtct	540
gctttctcgt gcttccagaa agctcaattg aagagtgcta aactggaaa taacgaacgc	600
atcatcaatg tgagcattaa aaagctgaag cgtaaacctc cttcaactaa tgctggacgc	660
cgtcagaaac atcgcttaac ctgcccacgc tgtgactctt atgagaaaa accgccgaag	720
gaatttttgg agcgtttcaa atcacttctg cagaagatga ttcatacaaca tttatcctcc	780
cgtactcatg ggtccgaaga cagc	804

<210> 157

<211> 888

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

<400> 157

ES 2 831 852 T3

atggcgcaag ttcaactgca agaaagcggc ggtggtctgg ttcaagcggg cggtagcctg	60
cgtctgagct gcgcggcgag cggtcgtacc ttcagcaact actatatggg ctggtttcgt	120
caagcgccgg gcaaggagcg tgaattcgtg gcgacatca gccagagcgg cagcattacc	180
tactatgcgg acagcgttaa gggtcgtttt accatcagcc gtgataacgc gaaaaacacc	240
gtgagcctgc aaatgaacag cctgaagccg gaggacaccg cggtttacta ttgcgcgggc	300
aacagcttca aaagcaacga tcattgggcg agcacctatt ggggccaagg taccaggtg	360
accgtttctt ctgcacacca tagtgaagat ccctcgtcca aagcccccaa agcacctac	420
ttcgaaagc tggagtcaaa acttagcgtc atccgcaacc tgaatgacca agttttattc	480
attgatcaag gaaatcgccc tctgtttgaa gacatgaccg atagtgactg tcgcgataac	540
gcgcctcgta caatctttat catcagcatg tataaagatt cgcaacctcg tggcatggcc	600
gtgaccatct ctgtaaaatg cgagaaaatc tcgacactta gctgtgagaa taagatcatc	660
tcattcaaag aaatgaatcc gcccgacaac attaaggaca caaaagcga cattattttc	720
ttccaacgct cagtaccggg ccatgataat aagatgcagt tcgagagtag ctcatacgaa	780
gggtattttc tggcatgtga aaaggaacgt gatttattca agttgattct gaagaaagag	840
gatgaattag gagaccgcag cattatgttc acagtccaga atgaggac	888

<210> 158

<211> 882

<212> **ADN**

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

<400> 158

ES 2 831 852 T3

atggcgcaag ttcaactgca agaaagcggc ggtggtcttg ttcaagcggg cggtagcctg	60
cgtctgagct gcgcggcgag cggtcgtacc ttcagcaact actatatggg ctggtttcgt	120
caagcgccgg gcaaggagcg tgaattcgtg gcgaccatca gccagagcgg cagcattacc	180
tactatgcgg acagcgtaa gggtcgtttt accatcagcc gtgataacgc gaaaaacacc	240
gtgagcctgc aaatgaacag cctgaagccg gaggacaccg cggtttacta ttgcgcgggc	300
aacagcttca aaagcaacga tcattgggcg agcacctatt ggggccaaagg taccaggtg	360
accgtttctt ctgcacacca tagtgaagat ccctcgtcca aagccccaa agcaccgatg	420
gcgactgcg atactgaggg caaggacggc aaacagtacg aaagcgtgct gatggtagc	480
atcgaccaac tgctggatag catgaaggag attggtagca actgcctgaa caacgaattc	540
aacttcttta agcgtcacat ttgcgatgcg aacaaagagg gcatgttcct gtttcgtgcg	600
gcgcgtaagc tgcgtcagtt cctgaaaatg aacagcaccg gtgactttga tctgcacctg	660
ctgaaggtga gcgaaggcac caccatcctg ctgaactgca ccggtcaggt taaaggtcgt	720
aaaccggcgg cgctgggcca ggcgcaaccg accaaaagcc tggaggaaaa caagagcctg	780
aaagaacaga agaaactgaa cgacctgtgc tttctgaagc gtctgctgca agagatcaag	840
acctgctgga acaaaattct gatgggcacc aaagaacacg ag	882

<210> 159

<211> 897

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

<400> 159

ES 2 831 852 T3

atggcgcaag ttcaactgca agaaagcggc ggtggtctgg ttcaagcggg cggtagcctg	60
cgtctgagct gcgcggcgag cggtcgtacc ttcagcaact actatatggg ctggtttcgt	120
caagcgccgg gcaaggagcg tgaattcgtg gcgaccatca gccagagcgg cagcattacc	180
tactatgcgg acagcgtaa gggtcgtttt accatcagcc gtgataacgc gaaaaacacc	240
gtgagcctgc aaatgaacag cctgaagcgg gaggacaccg cggtttacta ttgcgcgggc	300
aacagcttca aaagcaacga tcattgggcg agcacctatt ggggccaagg taccagggtg	360
accgtttctt ctgcacacca tagtgaagat ccctcgtcca aagcccccaa agcaccgatg	420
gcagtgcgta gcagcagccg taccctgagc gacaagcggg ttgcgcatgt ggttgcgaac	480
ccgcaggcgg agggtcagct gcaatggctg aaccgtcgtg cgaacgcgct gctggcgaac	540
ggtgtggaac tgcgtgataa ccaactggtg gttccgagcg agggcctgta cctgatctat	600
agccagggtgc tgttcaaagg tcaaggctgc ccgagcacc acgttctgct gaccacacc	660
atcagccgta ttgcggtgag ctaccagacc aagggttaacc tgctgagcgc gattaaaagc	720
ccgtgccaac gtgaaacccc ggaggggtcg gaggcgaagc cgtggtacga accgatctat	780
ctgggtggcg tgtttcagct ggaaaaaggc gaccgtctga gcgcggagat taaccgtccg	840
gactacctgg atttcgcgga gagcgtcaa gtttattttg gcatcattgc gctggag	897

<210> 160

<211> 912

<212> **ADN**

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

<400> 160

atggcgcaag ttcaactgca agaaagcggc ggtggtctgg ttcaagcggg cggtagcctg	60
cgtctgagct gcgcggcgag cggtcgtacc ttcagcaact actatatggg ctggtttcgt	120
caagcgccgg gcaaggagcg tgaattcgtg gcgaccatca gccagagcgg cagcattacc	180

tactatgctg	acagcggtta	gggtcggttt	accatcagcc	gtgataacgc	gaaaaacacc	240
gtgagcctgc	aaatgaacag	cctgaagccg	gaggacaccg	cggtttacta	ttgcgcgggc	300
aacagcttca	aaagcaacga	tcattgggag	agcacctatt	ggggccaagg	taccaggtg	360
accgtttctt	ctgcacacca	tagtgaagat	ccctcggtcc	aagcccccaa	agcaccgtgc	420
gaccttccgc	aaacccattc	gttaggggtc	cgccgtactc	ttatgctgct	tgctcagatg	480
cgtaagattt	ccctgttcag	ttgccttaag	gaccgtcacg	atgttggttt	tcctcaggag	540
gagtttgga	accagtttca	gaaagcagaa	acgattccag	tcctgcatga	gatgatccag	600
caaattttca	acctgttttc	gactaaggac	tccagtgcag	catgggacga	gactttgttg	660
gacaaatttt	atacggagct	gtatcaacaa	ttgaatgatc	tggaggcttg	cgttattcaa	720
ggcgtcggag	tgacggagac	tccgctgatg	aaagaggact	caatttttagc	agtgcgtaaa	780
tattttcaac	gtattacact	gtatttgaag	gaaaagaaat	actcaccgtg	tgctggggag	840
gtggtacgtg	ccgagatcat	gcgttctttc	tcgctgtcta	ccaaccttca	ggaaagcttg	900
cgtagcaagg	ag					912

<210> 161

<211> 813

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

<400> 161

atggcgcaag	ttcaactgca	agaaagcggc	ggtggtctgg	ttcaagcggg	cggtagcctg	60
cgtctgagct	gcgcggcgag	cggtcggtacc	ttcagcaact	actatatggg	ctgggttctgt	120
caagcgccgg	gcaaggagcg	tgaattcgtg	gcgaccatca	gccagagcgg	cagcattacc	180
tactatgctg	acagcggtta	gggtcggttt	accatcagcc	gtgataacgc	gaaaaacacc	240
gtgagcctgc	aaatgaacag	cctgaagccg	gaggacaccg	cggtttacta	ttgcgcgggc	300
aacagcttca	aaagcaacga	tcattgggag	agcacctatt	ggggccaagg	taccaggtg	360
accgtttctt	ctgcacacca	tagtgaagat	ccctcggtcc	aagcccccaa	agcaccgtgc	420
caagaccgcc	acatgatccg	catgcgccaa	ttgattgaca	ttgtagatca	gttgaagaat	480
tacgtgaacg	atcttgtgcc	tgagttcctg	ccggctccgg	aggatgtaga	aaccaattgc	540
gaatgggtctg	ctttctcgtg	cttccagaaa	gctcaattga	agagtgctaa	cactggaaat	600
aacgaacgca	tcacaaatgt	gagcattaaa	aagctgaagc	gtaaacctcc	ttcaactaat	660
gctggacgcc	gtcagaaaca	tcgcttaacc	tgcccatcgt	gtgactctta	tgagaaaaaa	720
ccgccgaagg	aatttttggg	gcgtttcaaa	tcacttctgc	agaagatgat	tcacaaacat	780
ttatcctccc	gtactcatgg	gtccgaagac	agc			813

<210> 162
<211> 960
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

5 <220>
<223> sintética

<400> 162

atggccgatg	ttcagctggt	tgaagcggc	ggcggctctgg	tgcagccggg	tggtagctta	60
cgtctgagct	gcgcagccag	tggtagtatt	tttacaatta	atgctatggg	ttggtaccgt	120
caggcaccgg	gcaaacagcg	cgaagaagtt	gcagcaatta	ccagcgggtg	tagtaccaat	180
tatgccgata	gcgtgaaagg	tcgtttttacc	attagtcgcg	ataatgcaaa	aaataccgtt	240
tatctgcaga	tgaatagcct	gaaaccggaa	gataccgcag	tttattattg	caaagccgtt	300
gtggtgacca	ccaccccgta	tagtgattat	tggggtcagg	gcaccctggt	taccgttagc	360
agtgcacacc	atagtgaaga	tccctcgtcc	aaagccccc	aagcaccgat	gcgcgaagg	420
ccggagttat	caccgcagca	ccccgctgga	cttctggacc	ttcgccaagg	tatgtttgct	480
caattagtcg	ctcagaacgt	cttgctgatt	gatggcccac	tgtcttggtg	ctctgatcca	540
ggattagccg	gggtttcgtt	aacgggggga	ctgtcttata	aggaagacac	caaagaattg	600
gtggtagcaa	aggccgggg	ttactatggt	tttttccagt	tagaattacg	tcgtgttgta	660
gctggcgagg	gtagcgggtc	cgtgagcctg	gctctgcatt	tgcaaccatt	gcgtagtgca	720
gctggggccg	ccgccttagc	ccttacggta	gacttaccgc	ctgcatctag	cgaagcccgt	780
aattcagcat	ttggttttca	ggggcgtttg	ttgcatttaa	gtgcggggcca	acgcctggga	840
gtgcatttgc	atacggaggc	tcgtgctcgt	cacgcctggc	aacttacgca	gggtgcgacc	900
gtattgggct	tgtttcgtgt	gactcctgag	atcccagcgg	gacttccctc	tcctcgtagc	960

10 <210> 163
<211> 969
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> sintética

15 <400> 163

atggcgcaag	ttcaactgca	agaaagcggc	ggtggtctgg	ttcaagcggg	cggtagcctg	60
cgtctgagct	gcgcggcgag	cggtcgtacc	ttcagcaact	actatatggg	ctggtttcgt	120
caagcgccgg	gcaaggagcg	tgaattcgtg	gcgaccatca	gccagagcgg	cagcattacc	180
tactatgcgg	acagcgtaa	gggtcgtttt	accatcagcc	gtgataacgc	gaaaaacacc	240
gtgagcctgc	aatgaacag	cctgaagccg	gaggacaccg	cggtttacta	ttgcgcgggc	300

aacagcttca aaagcaacga tcattgggagc agcacctatt ggggccaagg taccaggtg 360
accgtttctt ctgcacacca tagtgaagat ccctcgtcca aagcccccaa agcaccgatg 420
cgcgaagggc cggagttatc acccgacgac cccgctggac ttctggacct tcgccaaggt 480
atgtttgctc aattagtcgc tcagaacgtc ttgctgattg atggcccact gtcttggtac 540
tctgatccag gattagccgg ggtttcgtta acggggggac tgtcttataa ggaagacacc 600
aaagaattgg tggtagcaaa ggccgggggt tactatgttt tttccagtt agaattacgt 660
cgtgtttag ctggcgagg tagcggttcc gtgagcctgg ctctgcattt gcaaccattg 720
cgtagtgcag ctggggccgc cgccttagcc cttacggtag acttaccgcc tgcacttagc 780
gaagcccgta attcagcatt tggttttcag gggcgtttgt tgcatttaag tgcggggccaa 840
cgcctgggag tgcatttgca tacggaggct cgtgctcgtc acgcctggca acttacgcag 900
ggtgcgaccg tattgggctt gtttcgtgtg actcctgaga tcccagcggg acttccctct 960
cctcgtagc 969

<210> 164

<211> 807

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

<400> 164

atggccgatg ttcagctggt tgaaagcggc ggcggtctgg tgcagccggg tggtagctta 60
cgtctgagct gcgcagccag tggtagtatt tttacaatta atgctatggg ttggtaccgt 120
caggcaccgg gcaaacagcg cgaagaagtt gcagcaatta ccagcgggtg tagtaccaat 180
tatgccgata gcgtgaaagg tcgttttacc attagtcgcg ataatgcaa aaataccgtt 240
tatctgcaga tgaatagcct gaaaccggaa gataccgcag tttattattg caaagccgtt 300
gtggtgacca ccaccccgta tagtgattat tggggtcagg gcaccctggt taccgttagc 360
agtgcacacc atagtgaaga tccctcgtcc aaagccccca aagcaccgca ggtgagccat 420
cgctatcccc gtattcaaag tatcaaggta caattcacag agtataagaa agaaaagggc 480
tttatcttga cctcacaaaa agaggacgaa attatgaagg tgcagaataa ctcagtaatt 540
atcaactgtg atgggttcta cttaattagt ttgaaagggt acttctcaca ggaggtaaat 600
atctctctgc attacaaaaa agacgaggag ccgctttttc aattaaaaaa ggttcgcagt 660
gtaaattcac tgatggtcgc gtctttaact tataaggaca aagtttacct taatgtcacg 720
acagacaata catcacttga tgactttcac gtcaacggag gggagctgat tctgattcac 780
cagaaccctg gcgaattctg tgtactg 807

<210> 165

<211> 816
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

5 <220>
<223> sintética

<400> 165

atggcgcaag ttcaactgca agaaagcggc ggtggtctgg ttcaagcggg cggtagcctg	60
cgtctgagct ggcggcgag cggtcgtacc ttcagcaact actatatggg ctggtttcgt	120
caagcgccgg gcaaggagcg tgaattcgtg gcgaccatca gccagagcgg cagcattacc	180
tactatgcgg acagcgtaa gggtcgtttt accatcagcc gtgataacgc gaaaaacacc	240
gtgagcctgc aaatgaacag cctgaagccg gaggacaccg cggtttacta ttgcgcgggc	300
aacagcttca aaagcaacga tcattgggcy agcacctatt ggggccaagg taccaggtg	360
accgtttctt ctgcacacca tagtgaagat ccctcgtcca aagcccccaa agcaccgcag	420
gtgagccatc gctatccccg tattcaaagt atcaaggtag aattcacaga gtataagaaa	480
gaaaagggct ttatcttgac ctcaaaaaa gaggacgaaa ttatgaaggt gcagaataac	540
tcagtaatta tcaactgtga tgggttctac ttaattagtt tgaaaggtta cttctcacag	600
gaggtaata tctctctgca ttacaaaaa gacgaggagc cgctttttca attaaaaag	660
gttcgcagtg taaattcact gatggtcgcg tctttaactt ataaggacaa agtttacctt	720
aatgtcacga cagacaatac atcacttgat gactttcacg tcaacggagg ggagctgatt	780
ctgattcacc agaaccctgg cgaattctgt gtactg	816

<210> 166
<211> 855
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> sintética

<400> 166

atggccgatg ttcagctggt tgaaagcggc ggcggtctgg tgcagccggg tggtagctta	60
cgtctgagct ggcagccag tggtagtatt tttacaatta atgctatggg ttggtaccgt	120
caggcaccgg gcaaacagcg cgaagaagtt gcagcaatta ccagcgggtg tagtaccaat	180
tatgccgata gcgtgaaagg tcgttttacc attagtcgcy ataatgcaaa aaataaccgtt	240
tatctgcaga tgaatagcct gaaaccggaa gataccgcag tttattattg caaagccgtt	300
gtggtgacca ccaccccgta tagtgattat tggggtcagg gcaccctggt taccgttagc	360
agtgcacacc atagtgaaga tccctcgtcc aaagccccca aagcaccgat gcaaaaaggg	420
gacaaaaatc ctcaaattgc cgcccacgtc atttccgagg caagttcaaa gactacgtcg	480

15

ES 2 831 852 T3

gtacttcagt gggcggagaa aggatactac accatgtcaa acaaccttgt gacgttggag 540
aatggcaaac aactgactgt caaacgcaa ggtttatatt atatttacgc gcaggtgaca 600
ttctgtagta atcgtgaagc ctctagtcaa gcgcctttca tcgcttcttt atggttgaag 660
tcgcctggtc gttttgagcg tattctttta cgtgcggcca atacacacag tagtgccaag 720
ccgtgtggtc agcaaagcat tcacttaggt ggcgtatttg agttacaacc tggagcaagc 780
gtctttgtaa acgtgacaga tccctctcag gtgtcccatg ggacgggttt caccagcttt 840
ggcctgctga agctg 855

<210> 167
<211> 864
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

5

<220>
<223> sintética

<400> 167

atggcgcaag ttcaactgca agaaagcggc ggtggtctgg ttcaagcggg cggtagcctg 60
cgtctgagct gcgcgggcag cggctcgtacc ttcagcaact actatatggg ctggtttcgt 120
caagcgccgg gcaaggagcg tgaattcgtg gcgaccatca gccagagcgg cagcattacc 180
tactatgcgg acagcgttaa gggctcgtttt accatcagcc gtgataacgc gaaaaacacc 240
gtgagcctgc aaatgaacag cctgaagccg gaggacaccg cggtttacta ttgcgcgggc 300
aacagcttca aaagcaacga tcattgggcg agcacctatt ggggccaagg taccaggtg 360
accgtttctt ctgcacacca tagtgaagat ccctcgtcca aagcccccaa agcaccgatg 420
caaaaagggg accaaaatcc tcaaattgcc gccacgtca tttccgaggc aagttcaaag 480
actacgtcgg tacttcagtg ggcggagaaa ggatactaca ccatgtcaaa caaccttgtg 540
acgttggaga atggcaaca actgactgtc aaacgccaag gtttatatta tatttacgcg 600
caggtgacat tctgtagtaa tcgtgaagcc tctagtcaag gcgctttcat cgcttcttta 660
tggttgaagt cgcctggtcg ttttgagcgt attcttttac gtgcggccaa tacacacagt 720
agtccaagc cgtgtggtca gcaaagcatt cacttaggtg gcgtatttga gttacaacct 780
ggagcaagcg tctttgtaaa cgtgacagat ccctctcagg tgtcccatgg gacgggtttc 840
accagctttg gcctgctgaa gctg 864

<210> 168
<211> 870
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

10

<220>
<223> sintética

15

<400> 168

ES 2 831 852 T3

atggccgatg ttcagctggg tgaaagcggc ggcgggtctgg tgcagccggg tggtagctta	60
cgtctgagct gcgcagccag tggtagtatt tttaacaatta atgctatggg ttggtaccgt	120
caggcaccgg gcaaacagcg cgaagaagtt gcagcaatta ccagcgggtg tagtaccaat	180
tatgccgata gcgtgaaagg tcgttttacc attagtcgcg ataatgcaa aaataccgtt	240
tatctgcaga tgaatagcct gaaaccggaa gataccgcag ttattattg caaagccgtt	300
gtggtgacca ccaccccgta tagtgattat tggggtcagg gcaccctggg taccgttagc	360
agtgcacacc atagtgaaga tccctcgtcc aaagccccc aagcaatggc agactgcgat	420
atcgagggca aggacggcaa acagtacgaa agcgtgctga tggtagcat cgaccaactg	480
ctggatagca tgaaggagat tggtagcaac tgcctgaaca acgaattcaa cttctttaag	540
cgtcacattt gcgatgcgaa caaagagggc atgttcctgt ttcgtgcggc gcgtaagctg	600
cgtcagttcc tgaaaatgaa cagcaccggt gactttgatc tgcacctgct gaaggtgagc	660
gaaggcacca ccatcctgct gaactgcacc ggtcagggtta aaggctcgta accggcggcg	720
ctgggcgagg cgcaaccgac caaagcctg gaggaaca agagcctgaa agaacagaag	780
aaactgaacg acctgtgctt tctgaagcgt ctgctgcaag agatcaagac ctgctggaac	840
aaaattctga tgggcaccaa agaacacgag	870

<210> 169

<211> 879

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

<400> 169

ES 2 831 852 T3

```

atggcgcaag ttcaactgca agaaagcggc ggtggtctgg ttcaagcggg cggtagcctg      60
cgtctgagct gcgcggcgag cggtcgtacc ttcagcaact actatatggg ctggtttcgt      120
caagcgccgg gcaaggagcg tgaattcgtg gcgaccatca gccagagcgg cagcattacc      180
tactatgcgg acagcggtta gggtcgtttt accatcagcc gtgataacgc gaaaaacacc      240
gtgagcctgc aaatgaacag cctgaagccg gaggacaccg cggtttacta ttgcgcgggc      300
aacagcttca aaagcaacga tcattgggcg agcacctatt ggggccaagg taccaggtg      360
accgtttctt ctgcacacca tagtgaagat ccctcgtcca aagcccccaa agcaatggca      420
gactgcgata tcgagggcaa ggacggcaaa cagtacgaaa gcgtgctgat ggtagcatc      480
gaccaactgc tggatagcat gaaggagatt ggtagcaact gcctgaacaa cgaattcaac      540
ttctttaagc gtcacatttg cgatgcgaac aaagagggca tgttcctgtt tcgtgcggcg      600
cgtaagctgc gtcagttcct gaaaatgaac agcaccgggtg actttgatct gcacctgctg      660
aaggtgagcg aaggcaccac catcctgctg aactgcaccg gtcagggtta aggtcgtaaa      720
ccggcggcgc tgggcgaggg gcaaccgacc aaaagcctgg aggaaaacaa gagcctgaaa      780
gaacagaaga aactgaacga cctgtgcttt ctgaagcgtc tgctgcaaga gatcaagacc      840
tgctggaaca aaattctgat gggcaccaaaa gaacacgag      879

```

<210> 170

<211> 7

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

<400> 170

Gly Ser Ile Phe Thr Ile Asn

1

5

10 <210> 171

<211> 8

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> sintética

<400> 171

Ile Thr Ser Gly Gly Ser Thr Asn

1

5

<210> 172

<211> 11

20 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintética

<400> 172

	Val	Val	Val	Thr	Thr	Thr	Pro	Tyr	Ser	Asp	Tyr
	1				5					10	

5

<210> 173
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> sintética

<400> 173

	Ala	Arg	Ile	Phe	Ser	Ser	Tyr

10

1

5

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

15

<220>
 <223> sintética

<400> 174

	Val	Asn	Gly	Gly	Ser	Ser	Ser	Thr
	1				5			

20

<210> 175
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> sintética

25

<400> 175

	Ala	Gly	Arg	Ala	Gly	Pro	Leu	Ala	Ala	Ser	Tyr	Arg	Tyr	Asp	Tyr
	1				5					10				15	

30

<210> 176
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> sintética

<400> 176

	Ile	Thr	Arg	Gly	Gly	Ser	Thr	Asn
	1				5			

35

<210> 177
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> sintética

40

<400> 177

ES 2 831 852 T3

		Val	Val	Val	Thr	Thr	Thr	Ala	Tyr	Ser	Asp	Tyr
		1				5					10	
5		<210> 178 <211> 8 <212> PRT <213> Secuencia artificial <220> <223> sintética <400> 178										
				Leu	Thr	Ser	Gly	Gly	Ser	Thr	Asn	
				1				5				
10		<210> 179 <211> 11 <212> PRT <213> Secuencia artificial <220> <223> sintética <400> 179										
15												
		Val	Val	Val	Thr	Thr	Thr	Pro	Tyr	Ala	Asp	Tyr
		1				5					10	
20		<210> 180 <211> 10 <212> PRT <213> Secuencia artificial <220> <223> sintética <400> 180										
25		Val	Val	Val	Thr	Thr	Pro	Tyr	Ser	Asp	Tyr	
		1				5					10	
		<210> 181 <211> 7 <212> PRT <213> Secuencia artificial <220> <223> sintética <400> 181										
30												
				Gly	Ser	Ile	Cys	Thr	Ser	Asn		
				1				5				
35		<210> 182 <211> 7 <212> PRT <213> Secuencia artificial <220> <223> sintética <400> 182										
40												
				Gly	Leu	Thr	Phe	Ser	Ile	Arg		

ES 2 831 852 T3

		1	5
5	<210> 183 <211> 8 <212> PRT <213> Secuencia artificial <220> <223> sintética <400> 183	Ile Met Trp Ser Gly Gly Ala Thr 1 5	
10	<210> 184 <211> 6 <212> PRT <213> Secuencia artificial <220> <223> sintética <400> 184		
15		Trp Lys His Leu His Tyr 1 5	
20	<210> 185 <211> 7 <212> PRT <213> Secuencia artificial <220> <223> sintética <400> 185		
25		Val Ser Ile Phe Thr Ile Asn 1 5	
30	<210> 186 <211> 8 <212> PRT <213> Secuencia artificial <220> <223> sintética <400> 186		
35		Asn Thr Ser Gly Gly Ser Thr Asn 1 5	
40	<210> 187 <211> 7 <212> PRT <213> Secuencia artificial <220> <223> sintética <400> 187	Gly Ser Leu Phe Thr Ile Asn 1 5	

ES 2 831 852 T3

<210> 188
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 5 <220>
 <223> sintética
 <400> 188
 Leu Val Val Pro Pro Thr Pro Tyr Ser Val Tyr
 1 5 10
 10 <210> 189
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> sintética
 15 <400> 189
 Ser Thr Ser Gly Gly Ser Pro Asn
 1 5
 20 <210> 190
 <211> 11
 <212> **PRT**
 <213> Secuencia **artificial**
 <220>
 <223> sintética
 <400> 190
 Gly Gly Gly Ser Ser Thr Pro Asp Ser Asp Tyr
 1 5 10
 25 <210> 191
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 30 <223> sintética
 <400> 191
 Gly Ser Ile Phe Thr Ser Asn
 1 5
 35 <210> 192
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> sintética
 40 <400> 192
 Val Val Val Thr Thr Thr Pro Glu Ala Asp Tyr
 1 5 10
 <210> 193

ES 2 831 852 T3

<211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 5 <220>
 <223> sintética
 <400> 193

 Val Val Val Thr Thr Thr Gln Tyr Ser Asp Tyr
 1 5 10

 10 <210> 194
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> sintética
 <400> 194

 Gly Arg Thr Phe Ser Asn Tyr
 1 5
 15

 <210> 195
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 20 <220>
 <223> sintética
 <400> 195

 Ile Ser Gln Ser Gly Ser Ile Thr Tyr
 1 5

 25 <210> 196
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> sintética
 30 <400> 196

 Gly Asn Ser Phe Lys Ser Asn Asp His Trp Ala Ser Thr Tyr
 1 5 10

REIVINDICACIONES

1. Una proteína de fusión que comprende un agente inmunoestimulador fusionado a una unidad de direccionamiento que dirige dicho agente inmunoestimulador a un macrófago asociado a tumor, en la que el agente inmunoestimulador es IL-15 o IL15-IL15Ra, y en la que dicha unidad de direccionamiento es una proteína de unión a antígeno que se une específicamente a CD206, FOLR2, LGMN, CD204, CD163 o CD301.
2. La proteína de fusión de la reivindicación 1, en la que dicha unidad de direccionamiento es una proteína de unión a antígeno que se une específicamente a CD206.
3. La proteína de fusión de la reivindicación 2, en la que dicha proteína de unión a antígeno se selecciona entre el grupo que consiste en un dominio variable único de inmunoglobulina y un fragmento variable monocatenario (scFv).
4. La proteína de fusión de la reivindicación 3, en la que dicho dominio variable único de inmunoglobulina es un nanocuerpo.
5. La proteína de fusión de la reivindicación 4, en la que dicho nanocuerpo se une a CD206.
6. Un ácido nucleico que codifica el polipéptido de fusión de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5.
7. Una composición farmacéutica que comprende la proteína de fusión de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5.
8. La proteína de fusión de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 para su uso en el tratamiento del cáncer.
9. La proteína de fusión de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 para su uso en el tratamiento del cáncer de pulmón, cáncer de mama, cáncer de páncreas, cáncer de próstata, melanoma o mieloma múltiple.
10. La proteína de fusión de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 para su uso en el tratamiento del melanoma o mieloma múltiple.

FIG. 1A

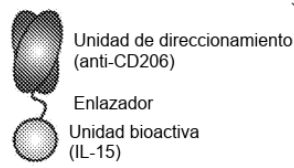


FIG. 1B

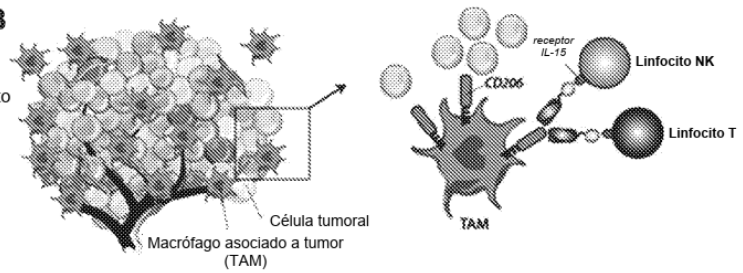


FIG. 2A

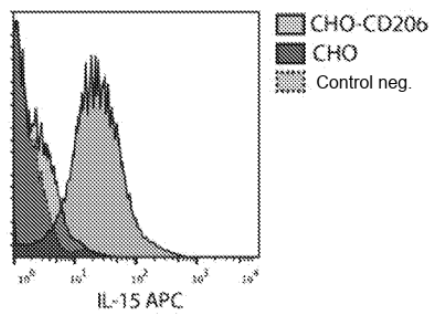


FIG. 2B

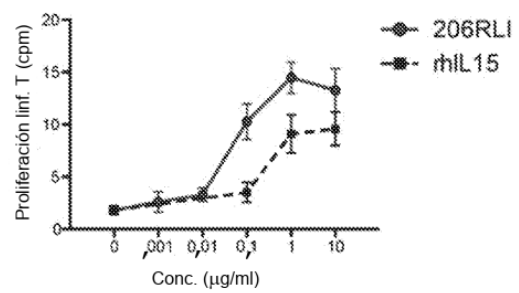


FIG. 3A

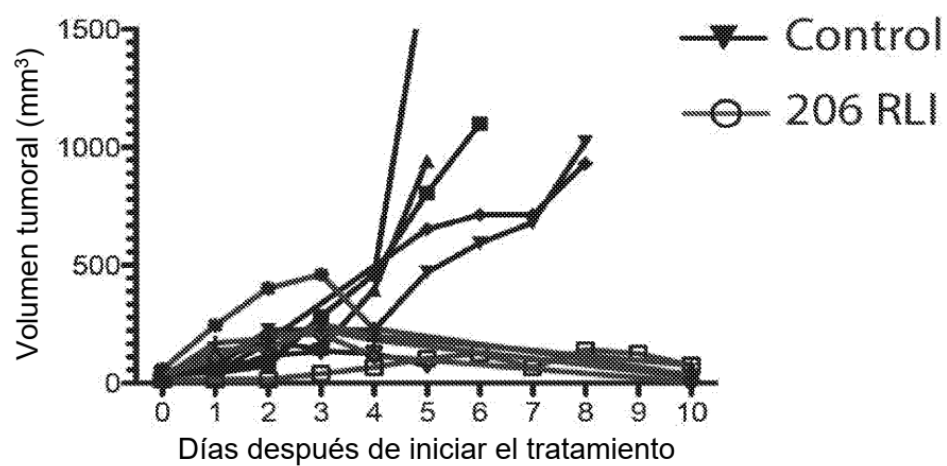


FIG. 3B

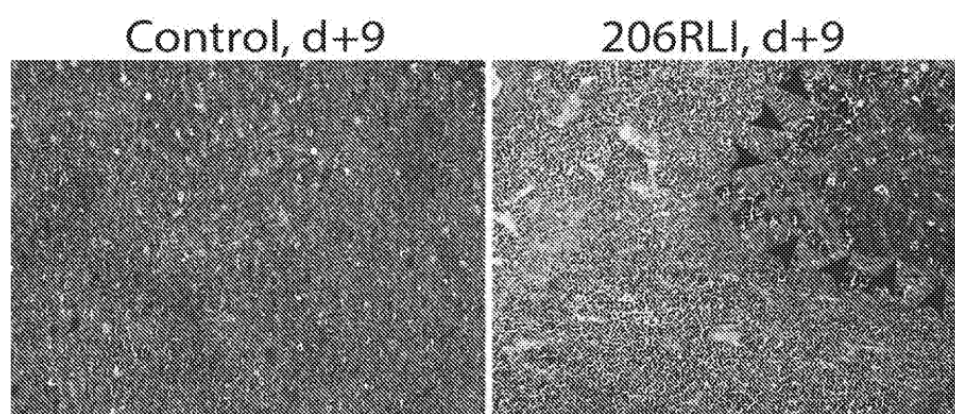


FIG. 4

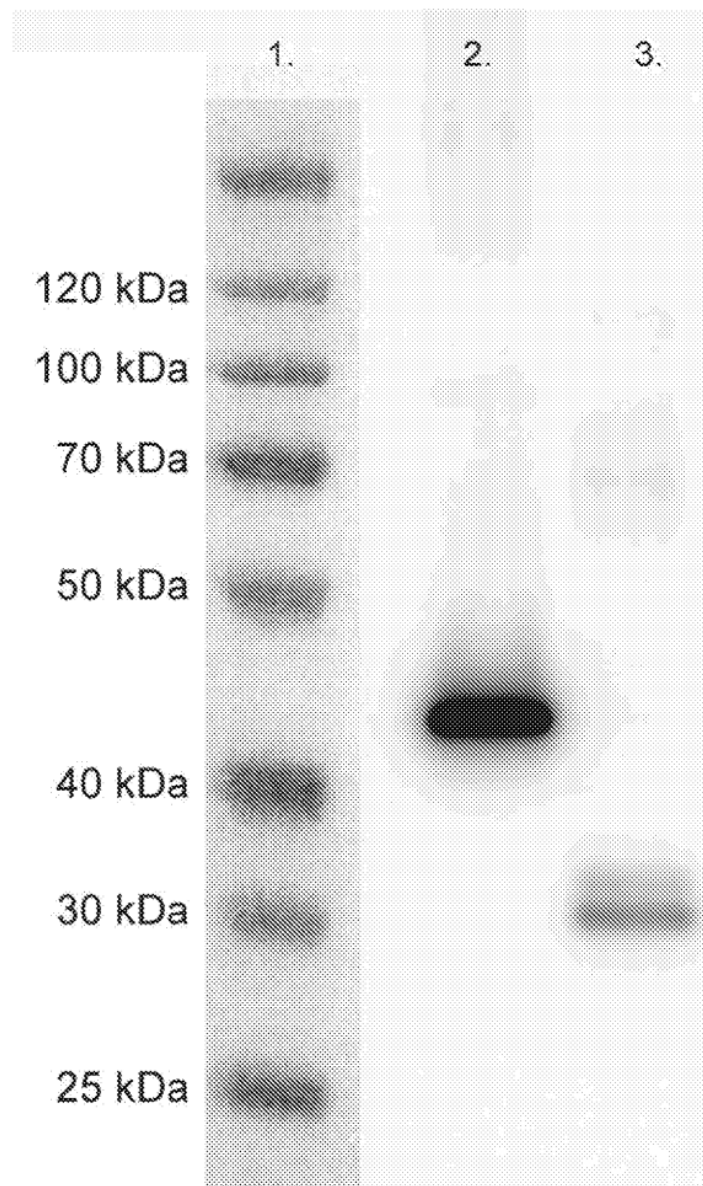


FIG. 5

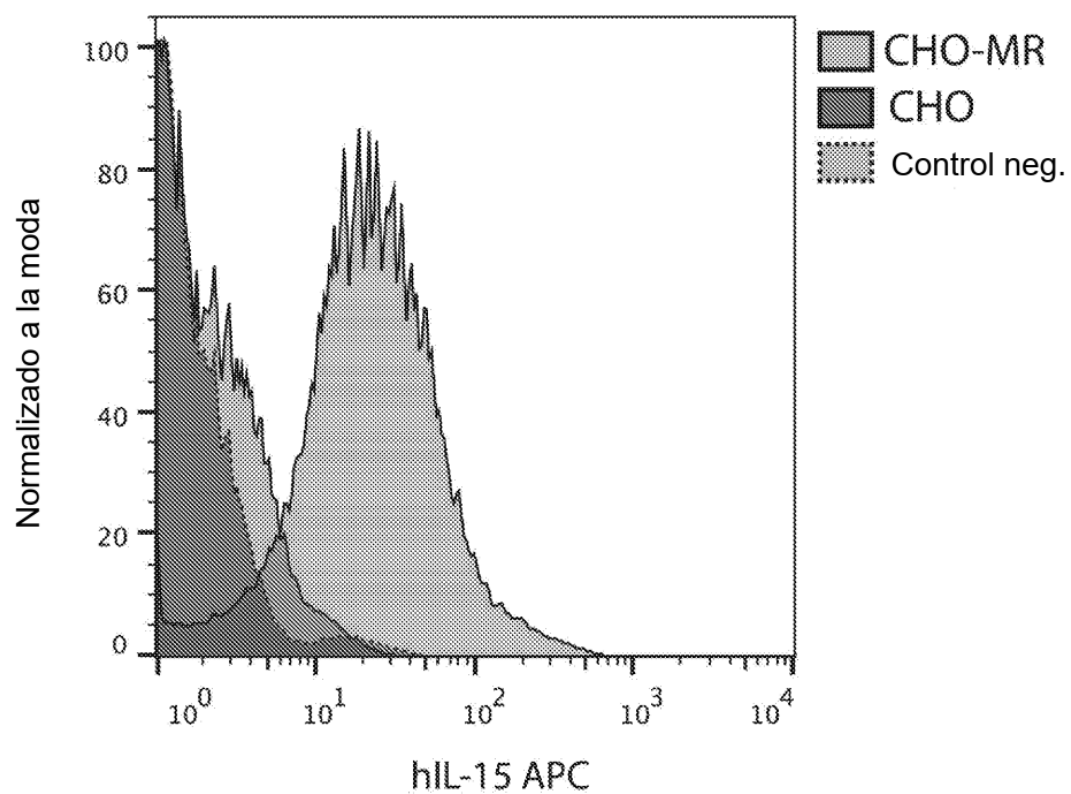


FIG. 6

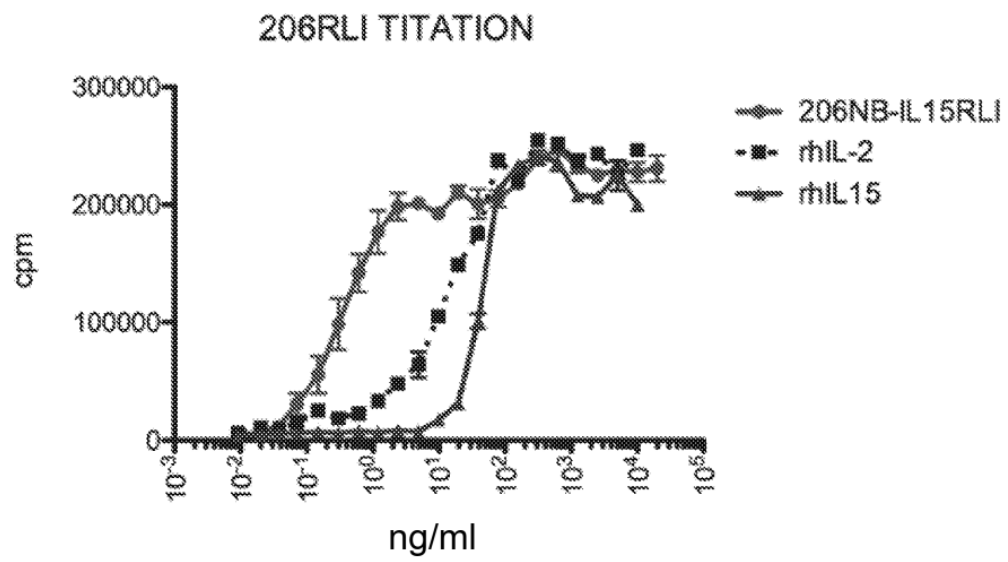


FIG. 7

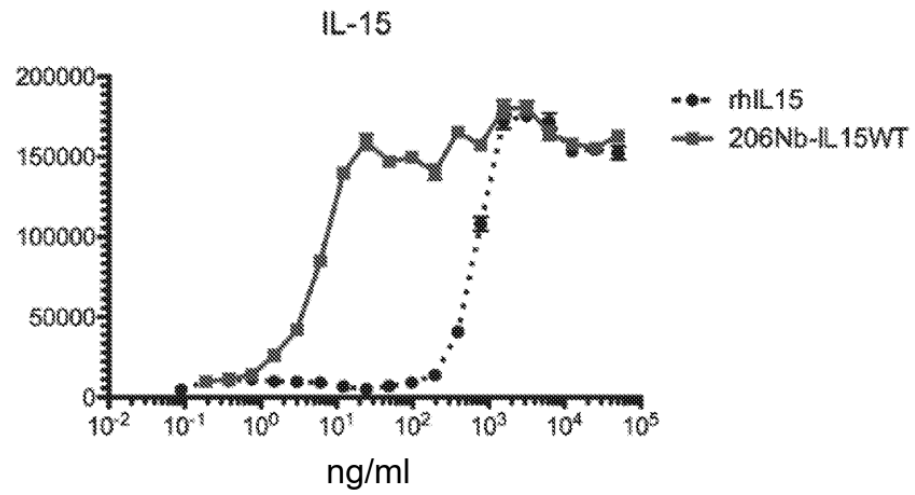


FIG. 8

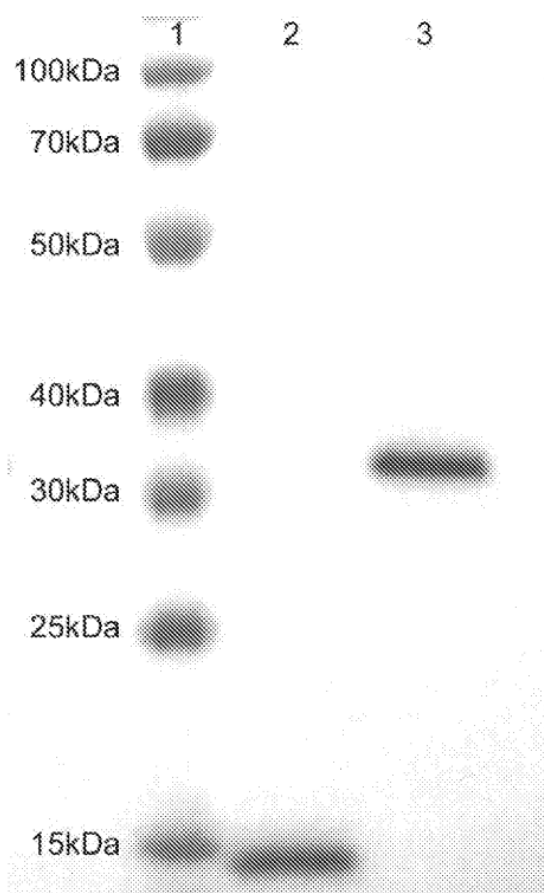


FIG. 9

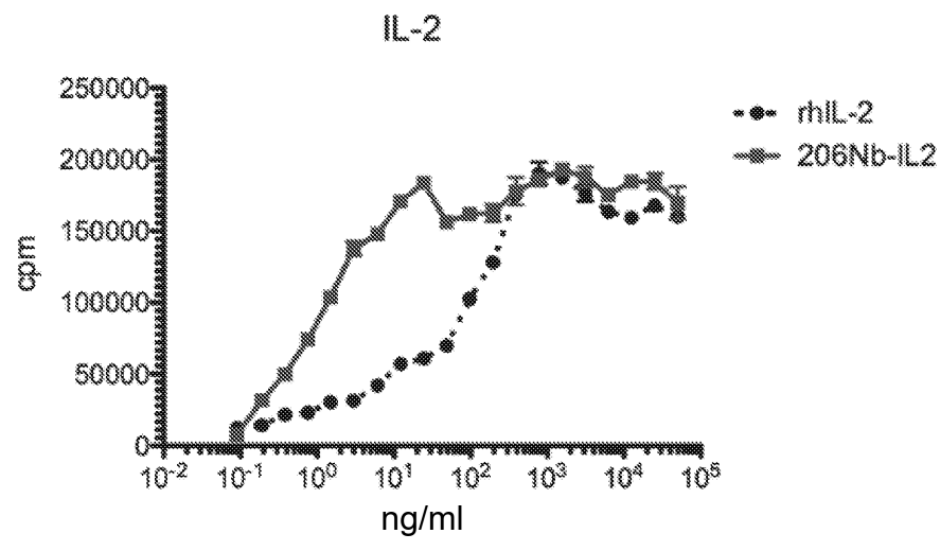


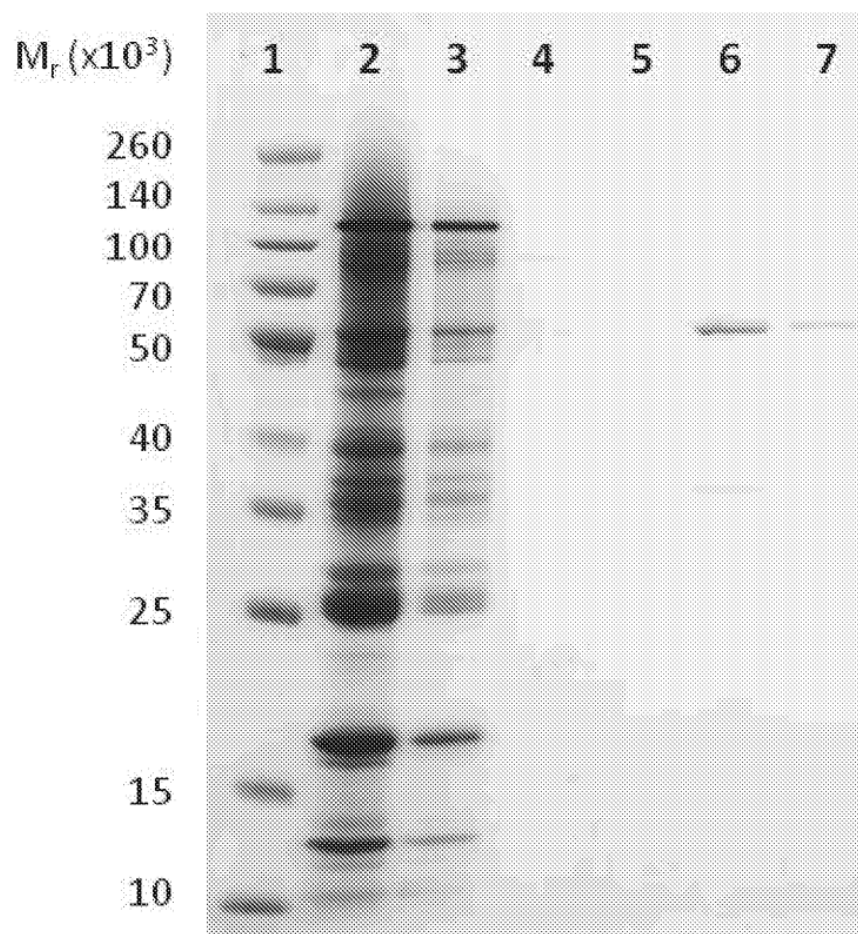
FIG. 10

FIG. 11A

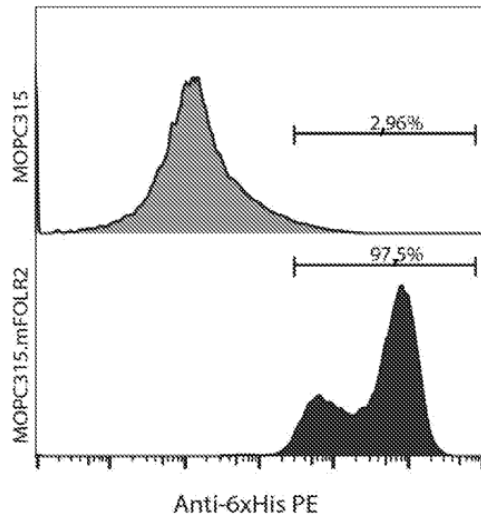


FIG. 11B

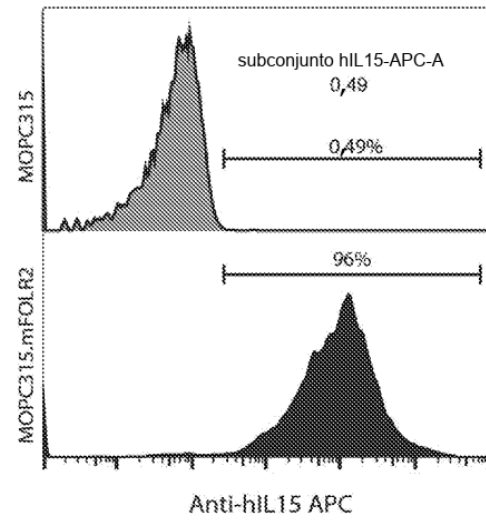


FIG. 12

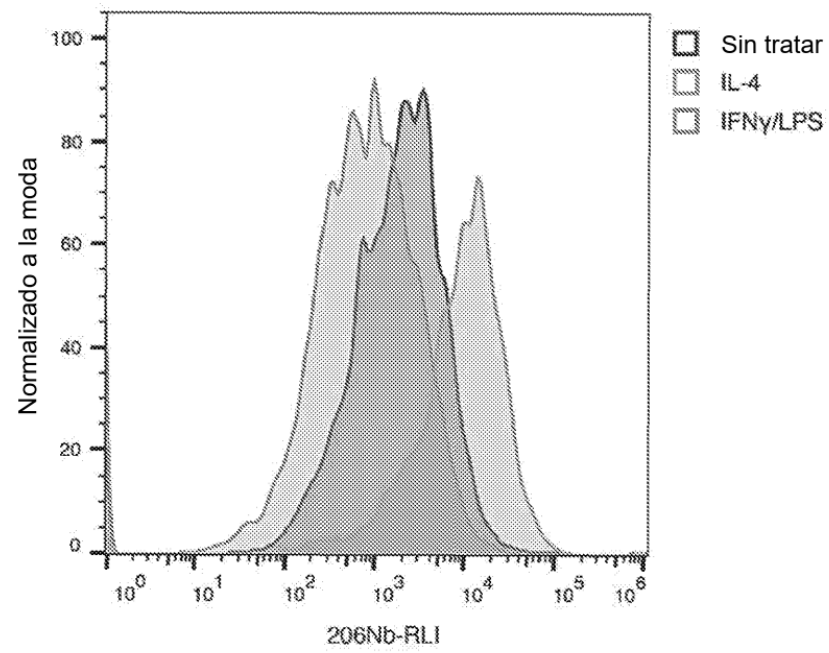


FIG. 13

