

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 799 503**

51 Int. Cl.:

A61K 39/00 (2006.01)

C07K 14/475 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **29.10.2015** **PCT/US2015/058111**

87 Fecha y número de publicación internacional: **06.05.2016** **WO16069921**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.10.2015** **E 15855147 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.03.2020** **EP 3212226**

54 Título: **Composiciones y procedimientos de uso para el tratamiento de trastornos metabólicos**

30 Prioridad:

31.10.2014 US 201462073737 P

21.10.2015 US 201562244604 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la
traducción de la patente:
18.12.2020

73 Titular/es:

NGM BIOPHARMACEUTICALS, INC. (100.0%)

333 Oyster Point Boulevard

South San Francisco, CA 94080, US

72 Inventor/es:

SHEN, WENYAN;

LINDHOUT, DARRIN;

HALDANKAR, RAJ y

MATERN, HUGO

74 Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

ES 2 799 503 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

Composiciones y procedimientos de uso para el tratamiento de trastornos metabólicos

5 CAMPO DE LA INVENCION

La presente invención se refiere, entre otras cosas, al complejo de polipéptidos y composiciones del mismo que son útiles en el tratamiento de afecciones relacionadas con el metabolismo.

10 INTRODUCCIÓN

La obesidad es causada más comúnmente por la ingesta excesiva de alimentos junto con un gasto energético limitado y/o la falta de ejercicio físico. La obesidad aumenta la posibilidad de desarrollar varias enfermedades, tales como diabetes mellitus, hipertensión, aterosclerosis, enfermedad de las arterias coronarias, apnea del sueño, gota, reumatismo y artritis. Además, el riesgo de mortalidad se relaciona directamente con la obesidad, de modo que, por ejemplo, un índice de masa corporal de más de 40 resulta en una disminución promedio de la esperanza de vida de más de 10 años.

Las modalidades de tratamiento farmacológico actuales incluyen supresores del apetito dirigidos a clases de receptores (por ejemplo, CB1, 5-HT_{2c}, y NPY); reguladores de los circuitos de apetito en el hipotálamo y las acciones moleculares de la grelina; e inhibidores de absorción de nutrientes dirigidos a lipasas. Desafortunadamente, ninguna de las modalidades actuales ha mostrado tratar de forma efectiva la obesidad sin provocar efectos adversos, algunos de los cuales pueden ser muy graves.

Los niveles altos de glucosa en la sangre estimulan la secreción de insulina por las células beta pancreáticas. La insulina, por su parte, estimula la entrada de la glucosa en los músculos y células adiposas, lo que lleva al almacenamiento de glicógeno y triglicéridos y a la síntesis de las proteínas. La activación de los receptores de insulina en varios tipos de células disminuye los niveles de glucosa en circulación al aumentar la absorción y utilización de la glucosa, y al reducir la salida de glucosa hepática. Las alteraciones dentro de esta red reguladora pueden resultar en diabetes y síndromes patológicos asociados que afectan a un amplio y creciente porcentaje de la población humana.

Los pacientes que tienen un trastorno del metabolismo de la glucosa pueden sufrir hiperglucemia, hiperinsulinemia y/o intolerancia a la glucosa. Un ejemplo de un trastorno que generalmente está asociado con los niveles anormales de glucosa y/o insulina es la resistencia a la insulina, en la que las células hepáticas, grasas y musculares pierden su capacidad de responder a los niveles de insulina en sangre normales.

En vista de la prevalencia y la gravedad de la obesidad, la diabetes y los trastornos metabólicos y no metabólicos asociados, las modalidades de tratamiento que modulan, por ejemplo, los niveles de apetito, glucosa y/o insulina y mejoran la respuesta biológica a los niveles fluctuantes de glucosa en un paciente siguen siendo de interés.

El tipo salvaje GDF15, también conocido como MIC-1 (citocina-1 inhibidora de macrófagos) se ha relacionado con la regulación del peso corporal (Tsai VW, y col., PLoS One 2013; 8 (2): e55174 ; US8.192.735).

RESUMEN

Se proporcionan polipéptidos GDF15 modificado para el tratamiento de trastornos metabólicos. Los polipéptidos GDF15 modificados pueden estar presentes en un complejo. Un complejo de la presente descripción puede incluir dos polipéptidos GDF15. La presente invención se define mediante las reivindicaciones adjuntas.

En ciertos casos, un complejo de la presente descripción comprende un primer polipéptido que comprende una secuencia de IgG Fc, comprendiendo la secuencia de Fc de IgG una secuencia CH3 que comprende al menos una protuberancia de ingeniería; y un segundo polipéptido que comprende una secuencia de IgG Fc, comprendiendo la secuencia de Fc de IgG una secuencia CH3 que comprende al menos una cavidad de ingeniería, donde el primer polipéptido se dimeriza con el segundo polipéptido mediante el posicionamiento de la protuberancia del primer polipéptido en la cavidad del segundo polipéptido, y donde el extremo C del primer polipéptido o el extremo C del segundo polipéptido está conjugado con el extremo N- de una muteína GDF15 que comprende al menos un sitio de consenso de glicosilación de enlace-N.

En ciertos casos, un complejo de la presente descripción comprende un primer heterodímero y un segundo heterodímero, comprendiendo cada uno del primer heterodímero y el segundo heterodímero un primer polipéptido y un segundo polipéptido, comprendiendo el primer polipéptido una secuencia de IgG Fc, comprendiendo la secuencia de IgG Fc una secuencia CH3 que comprende al menos una protuberancia diseñada; y comprendiendo el segundo

polipéptido una secuencia IgG Fc, comprendiendo la secuencia IgG Fc una secuencia CH3 que comprende al menos una cavidad diseñada; donde el primer polipéptido se dimeriza con el segundo polipéptido mediante la colocación de la protuberancia del primer polipéptido en la cavidad del segundo polipéptido, donde el primer polipéptido de extremo C o el segundo polipéptido de extremo C se conjuga con el extremo N de una muteína GDF15 que comprende al menos un sitio de consenso de glicosilación de enlace-N, y donde la muteína GDF15 en el primer heterodímero se dimeriza con la muteína GDF15 en el segundo heterodímero formando así el complejo que comprende el primer heterodímero y el segundo heterodímero.

En los casos de ejemplo, el extremo C del primer polipéptido se puede conjugar con el extremo N de la muteína GDF15.

En otros casos, el extremo C del segundo polipéptido puede conjugarse con el extremo N de la muteína GDF15.

También se contempla en esta invención un primer polipéptido que comprende una secuencia de IgG Fc, comprendiendo la secuencia de IgG Fc una secuencia CH3 que comprende al menos una protuberancia diseñada, donde el primer polipéptido se dimeriza con un segundo polipéptido que comprende una secuencia de IgG Fc, comprendiendo la secuencia de IgG Fc una secuencia CH3 que comprende al menos una cavidad diseñada; y una muteína GDF15 que comprende al menos un sitio de consenso de glicosilación de enlace-N, donde el primer polipéptido de extremo C se conjuga con el extremo N de la muteína GDF15. El primer polipéptido puede estar presente en un complejo que puede incluir también el segundo polipéptido.

También se describe en esta invención un primer polipéptido que comprende una secuencia de IgG Fc, comprendiendo la secuencia de IgG Fc una secuencia CH3 que comprende al menos una cavidad diseñada, donde el primer polipéptido se dimeriza con un segundo polipéptido que comprende una secuencia de IgG Fc, comprendiendo la secuencia de IgG Fc una secuencia CH3 que comprende al menos una protuberancia diseñada; y una muteína GDF15 que comprende al menos un sitio de consenso de glicosilación de enlace-N, donde el primer polipéptido de extremo C se conjuga con el extremo N de la muteína GDF15. El primer polipéptido puede estar presente en un complejo que puede incluir también el segundo polipéptido.

En ciertos casos, la muteína GDF15 en el complejo puede comprender una secuencia de aminoácidos contigua que es al menos en un 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de GDF15 tipo salvaje (SEQ ID NO: 1). Por ejemplo, la muteína GDF15 puede incluir al menos una sustitución del aminoácido correspondiente en la SEQ ID NO: 1 que crea el sitio de consenso de glicosilación de enlace-N, por ejemplo, la sustitución puede ser D5T o D5S. En otros casos, la sustitución puede ser R21N.

En los casos de ejemplo, la muteína GDF15 puede incluir al menos uno de los siguientes pares de sustituciones de los correspondientes aminoácidos de SEQ ID NO: 1 que crean el sitio de consenso de glicosilación de enlace-N: R16N y H18T/S; S23N y E25T/S; L24N y D26T/S; S50N y F52T/S; F52N y A54T/S; Q51N y R53T/S; R53N y A55T/S; S64N y H66T/S; L65N y R67T/S; S82N y N84T/S; K91N y D93T/S; D93N y G95T/S; T94N y V96T/S; V96N y L98T/S; S97N y Q99T/S; y A106N y D108T/S.

En casos de ejemplo, la muteína GDF15 puede incluir al menos uno de los siguientes pares de sustituciones de los aminoácidos correspondientes en la SEQ ID NO: 1 que crean el sitio de consenso de glicosilación de enlace-N: R16N y H18T; S23N y E25T; L24N y D26T; S50N y F52T; F52N y A54T; Q51N y R53T; R53N y A55T; S64N y H66T; L65N y R67T; S82N y N84T; K91N y D93T; D93N y G95T; T94N y V96T; V96N y L98T; S97N y Q99T; y A106N y D108T.

En algunos casos, la muteína GDF15 puede incluir al menos uno de los siguientes pares de sustituciones de los aminoácidos correspondientes en la SEQ ID NO: 1 que crean el sitio de consenso de glicosilación de enlace-N: R16N y H18S; S23N y E25S; L24N y D26S; S50N y F52S; F52N y A54S; Q51N y R53S; R53N y A55S; S64N y H66S; L65N y R67S; S82N y N84S; K91N y D93S; D93N y G95S; T94N y V96S; V96N y L98S; S97N y Q99S; y A106N y D108S.

En ciertos casos, la muteína GDF15 puede incluir al menos uno de los siguientes pares de sustituciones de los aminoácidos correspondientes de la SEQ ID NO: 1: S23N y E25T/S; R53N y A55T/S; S64N y H66T/S; K91N y D93T/S; D93N y G95T/S; S97N y Q99T/S; y A106N y D108T/S.

En ciertos casos, la muteína GDF15 puede incluir al menos uno de los siguientes pares de sustituciones de los aminoácidos correspondientes en la SEQ ID NO: 1: S23N y E25T; R53N y A55T; S64N y H66T; K91N y D93T; D93N y G95T; S97N y Q99T; y A106N y D108S.

En ciertos casos, la muteína GDF15 puede incluir al menos uno de los siguientes pares de sustituciones de los aminoácidos correspondientes en la SEQ ID NO: 1: S23N y E25S; R53N y A55S; S64N y H66S; K91N y D93S; D93N y G95S; S97N y Q99S; y A106N y D108S.

En ciertos casos, la muteína GDF15 puede incluir al menos uno de los siguientes pares de sustituciones de los

aminoácidos correspondientes de la SEQ ID NO: 1: S64N y H66T/S; K91N y D93T/S; D93N y G95T/S; y S97N y Q99T/S. Por ejemplo, la muteína GDF15 puede incluir al menos uno de los siguientes pares de sustituciones de los aminoácidos correspondientes de la SEQ ID NO: 1: S64N y H66T; K91N y D93T; D93N y G95T; y S97N y Q99T; o S64N y H66S; K91N y D93S; D93N y G95S; y S97N y Q99S.

5

En otros casos, la muteína GDF15 puede incluir al menos uno de los siguientes pares de sustituciones de los aminoácidos correspondientes en la SEQ ID NO: 1: K91N y D93T o D93S; y D93N y G95T o G95S.

En otros casos, la muteína GDF15 en el complejo puede comprender una secuencia de aminoácidos contigua que puede tener al menos 98 aminoácidos de longitud y puede ser al menos en un 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1, donde el aminoácido del C-terminal de la muteína GDF15 corresponde a isoleucina en la posición 112 en la SEQ ID NO: 1.

En otros casos, la secuencia de aminoácidos contigua puede tener al menos 98 aminoácidos de longitud y puede ser al menos en un 95 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1, donde el aminoácido del C-terminal de la muteína GDF15 corresponde a isoleucina en la posición 112 en la SEQ ID NO: 1.

La muteína GDF15 ejemplar presente en el complejo descrito en esta invención incluye una secuencia de aminoácidos contigua que tiene al menos 98 aminoácidos de longitud, es al menos en un 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1, y tienen eliminaciones de aminoácidos con respecto a la SEQ ID NO: 1. Por ejemplo, los polipéptidos pueden tener un truncamiento de N-terminal con respecto a la SEQ ID NO: 1. El truncamiento de N-terminal puede ser de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 o más aminoácidos con respecto a la SEQ ID NO: 1, por ejemplo, 1-14 aminoácidos, 2-14 aminoácidos, 3-14 aminoácidos, 2-3 aminoácidos, 3-5 aminoácidos, o 4-6 aminoácidos.

25

Los complejos de ejemplo descritos en esta invención incluyen la muteína GDF15 que incluye una secuencia de aminoácidos contigua de al menos 98 aminoácidos de longitud y al menos en un 95 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1, donde el aminoácido de C-terminal del polipéptido corresponde a isoleucina en la posición 112 en la SEQ ID NO: 1.

30

En ciertos casos, la secuencia de aminoácidos contigua en la muteína GDF15 tiene al menos 98 aminoácidos de longitud y no incluye el primer aminoácido que corresponde al primer aminoácido presente en el extremo N de la SEQ ID NO: 1, donde el aminoácido de C-terminal corresponde a isoleucina en la posición 112 en la SEQ ID NO: 1.

En ciertos casos, la secuencia de aminoácidos contigua en la muteína GDF15 tiene al menos 98 aminoácidos de longitud y no incluye los dos primeros aminoácidos que corresponden a los dos primeros aminoácidos presentes en el extremo N de la SEQ ID NO: 1, donde el aminoácido de C-terminal corresponde a isoleucina en la posición 112 en la SEQ ID NO: 1.

En ciertos casos, la secuencia de aminoácidos contigua tiene al menos 98 aminoácidos de longitud y no incluye los tres primeros aminoácidos que corresponden a los tres primeros aminoácidos presentes en el extremo N de la SEQ ID NO: 1, donde el aminoácido de C-terminal corresponde a isoleucina en la posición 112 en la SEQ ID NO: 1.

En ciertos casos, la secuencia de aminoácidos contigua tiene al menos 98 aminoácidos de longitud y no incluye los seis primeros aminoácidos que corresponden a los seis primeros aminoácidos presentes en el extremo N de la SEQ ID NO: 1, donde el aminoácido de C-terminal corresponde a isoleucina en la posición 112 en la SEQ ID NO: 1.

En ciertos casos, la secuencia de aminoácidos contigua tiene al menos 98 aminoácidos de longitud y no incluye los catorce primeros aminoácidos que corresponden a los catorce primeros aminoácidos presentes en el extremo N de la SEQ ID NO: 1.

En ciertos casos, el extremo C ya sea del primer polipéptido (por ejemplo, Fc-botón) o el segundo polipéptido (por ejemplo, Fc-ojal) se conjuga con el extremo N de la muteína GDF15 a través de un enlazador. Enlazadores ejemplares incluyen la secuencia $(G_4S)_n$, donde $n=1-10$, por ejemplo, 1-5 o 2-5, para los ejemplos 2, 3, 4, o 5.

55

En ciertos casos, IgG Fc comprende una secuencia de aminoácidos contigua al menos en un 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos en la SEQ ID NO: 2 (secuencia de Fc de IgG1 humana). La protuberancia diseñada puede incluir al menos una sustitución del aminoácido correspondiente en una secuencia de Fc de IgG1 humana, donde la sustitución es en una posición seleccionada de entre el grupo que consiste en residuos de aminoácidos 347, 366 y 394, según la numeración de la UE. Por ejemplo, al menos una sustitución se selecciona del grupo que consiste en Q347W/Y, T366W/Y, y T394W/Y, según la numeración de la UE.

60

En ciertos casos, la cavidad diseñada comprende al menos una sustitución del aminoácido correspondiente en una secuencia IgG1 Fc humana, donde la sustitución está en una posición seleccionada del grupo que consiste en los residuos de aminoácidos 366, 368, 394, 405 y 407, según la numeración de la UE. Por ejemplo, al menos una sustitución se selecciona del grupo que consiste en T366S, L368A, T394S, F405T/V/A, y Y407T/V/A, según la
5 numeración de la UE.

En ciertos casos, la protuberancia puede incluir la sustitución T366W/Y y la cavidad puede incluir las sustituciones T366S, L368A, y Y407T/V/A, según la numeración de la UE.

10 Por ejemplo, la protuberancia puede incluir la sustitución T366W/Y y la cavidad puede incluir la sustitución Y407T/V/A, según la numeración de la UE. En otros casos, la protuberancia puede incluir la sustitución T366Y y la cavidad puede incluir la sustitución Y407T, según la numeración de la UE. En otros ejemplos, la protuberancia puede incluir la sustitución T366W y la cavidad puede incluir la sustitución Y407A, según la numeración de la UE. En ejemplos adicionales, la protuberancia puede incluir la sustitución T394Y y la cavidad puede incluir la sustitución Y407T, según
15 la numeración de la UE.

En ciertos casos, las secuencias de IgG Fc del primer y segundo polipéptidos pueden incluir cada uno una región bisagra que forma al menos un enlace disulfuro entre el primer y el segundo polipéptidos. En ciertos casos, las secuencias de IgG Fc del primer y segundo polipéptidos pueden incluir una región bisagra, una región CH2 y una
20 región CH3, donde las regiones bisagra forman al menos un enlace disulfuro entre el primer y el segundo polipéptidos.

También se proporciona en esta invención una molécula de ácido nucleico que codifica los anteriores primer y segundo polipéptidos descritos. La molécula de ácido nucleico puede estar operativamente unida a un elemento de control de expresión que confiere la expresión de la molécula de ácido nucleico que codifica los polipéptidos in vitro o in vivo.
25 También se contempla un vector que incluye la molécula de ácido nucleico. El vector puede ser un vector viral. En ciertos casos, se proporcionan un primer ácido nucleico que codifica el primer polipéptido y un segundo ácido nucleico que codifica el segundo polipéptido. Cada uno de los ácidos nucleicos está operativamente unido a un elemento de control de expresión que confiere la expresión del primer y segundo polipéptidos del primer y segundo ácidos nucleicos, respectivamente. También se describe un primer vector que comprende el primer ácido nucleico y un segundo vector
30 que comprende el segundo ácido nucleico. Como se señaló aquí, el vector puede ser un vector viral.

Algunos casos incluyen células huésped transformadas que expresan uno o más de los polipéptidos mencionados anteriormente. Por ejemplo, se proporciona una célula huésped que incluye el primer y segundo ácidos nucleicos. La célula huésped expresa el primer polipéptido y el segundo polipéptido.
35

En aspectos particulares de la presente descripción, uno o más de los complejos mencionados anteriormente se formulan para producir una composición farmacéutica, donde la composición incluye también uno o más diluyentes, vehículos o excipientes farmacéuticamente aceptables. En ciertos casos, una composición farmacéutica incluye también al menos un agente profiláctico o terapéutico adicional.
40

También se proporciona una composición (por ejemplo, composición farmacéutica) de uno o más de los complejos anteriormente mencionados para el tratamiento o prevención de un trastorno de peso corporal en un sujeto; para el tratamiento o la prevención de un trastorno del metabolismo de la glucosa en un sujeto. La composición puede incluir una cantidad del complejo que es eficaz para tratar o prevenir un trastorno de peso corporal en un sujeto. La
45 composición puede incluir una cantidad del complejo que sea efectiva para tratar o prevenir un trastorno del metabolismo de la glucosa en un sujeto.

Aún otros aspectos de la presente descripción comprenden un anticuerpo que se une específicamente a uno de los primer y segundo polipéptidos anteriormente mencionados.
50

Además, la presente descripción contempla composiciones farmacéuticas que comprenden un anticuerpo como se describe anteriormente formulado con al menos un excipiente, vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable. Tales composiciones farmacéuticas pueden contener también al menos un agente terapéutico o profiláctico adicional.

55 Ciertos aspectos de la presente descripción contemplan un recipiente estéril que contiene una de las composiciones farmacéuticas mencionadas anteriormente y, opcionalmente, uno o más componentes adicionales. A modo de ejemplo, pero de modo no limitativo, el recipiente estéril puede ser una jeringa. En otros casos, el contenedor estéril es un componente de un kit; el kit también puede contener, por ejemplo, un segundo recipiente estéril que contiene al menos un agente profiláctico o terapéutico.

60 También se describe en esta invención un procedimiento para fabricar los polipéptidos y complejos mencionados anteriormente. El procedimiento puede incluir el cultivo de una célula huésped que exprese los polipéptidos; y el

aislamiento del complejo que incluye los polipéptidos expresados.

La presente descripción contempla también un procedimiento para tratar o prevenir un trastorno del metabolismo de la glucosa en un sujeto (por ejemplo, un ser humano) administrando al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva del complejo mencionado anteriormente. En algunos procedimientos, el tratamiento o prevención resulta en una reducción en la glucosa en plasma en el sujeto, una reducción en la insulina en plasma en el sujeto, una reducción en el peso corporal y/o la ingesta de alimentos, o un aumento en la tolerancia a la glucosa en el sujeto. En realizaciones particulares, el trastorno del metabolismo de la glucosa es diabetes mellitus.

10 También se describe un procedimiento para tratar o prevenir un trastorno del peso corporal en un sujeto. El procedimiento puede incluir administrar al sujeto el complejo de la presente descripción, donde el complejo se administra en una cantidad efectiva para tratar o prevenir el trastorno del peso corporal en el sujeto. En algunos procedimientos, el tratamiento o prevención resulta en la reducción en el peso corporal y/o la ingesta de alimentos en el sujeto.

15 En algunos casos, el sujeto es obeso y/o tiene un trastorno del peso corporal.

Aunque no se limita a ninguna vía particular de administración o régimen de dosificación, en algunos casos la administración es por inyección parenteral (por ejemplo, subcutánea).

20 BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

La figura 1 representa un esquema de historieta del complejo homodimérico de heterodímeros de las moléculas (Fc/Fc)-GDF15 donde los polipéptidos Fc/Fc son pares Fc de botón-en-ochal (knob-in-hole) (A-F) y la incorporación de glicanos de enlace-N en la molécula GDF15 (E, F) para mejorar la expresión y montaje del complejo homodimérico de los heterodímeros.

La figura 2A representa las recuperaciones de la expresión transitoria Expi 293F de complejos (Fc/Fc)-GDF15 diseñados. Las recuperaciones son como sigue: (0 = agregados/sin expresión, < 25 mg/L, 25 mg/L-49,9 mg/L, 50 mg/L-74,9 mg/L, 75 mg/L-99,0 mg/L, >100 mg/L). La adición de un glicano de enlace-N en la secuencia GDF15 en el (Fc/Fc)-GDF15 proporciona un aumento significativo a las recuperaciones globales después de la purificación. La Figura 2B proporciona las recuperaciones de expresión transitoria Expi 293F de GDF15 de tipo salvaje y mutantes de glicosilación GDF15 (glicomuténas) que no se conjugaron con Fc.

La figura 3 representa la reducción en el peso corporal en el modelo de ratón obeso inducido por dieta (DIO) después del suministro subcutáneo de 0,4 nmol/kg de complejos (Fc/Fc)-GDF15, una vez a la semana durante 4 semanas, seguido de un período de recuperación de 14 días. La variante B13a/B13b ha mejorado significativamente la eficacia en comparación con las variantes B9a/B9b y B11a/B11b.

La figura 4 representa el porcentaje de reducción en el peso corporal en el modelo de ratón DIO tras el suministro subcutáneo de 0,4 nmol/kg de complejo (Fc/Fc)-GDF15, una vez a la semana durante 4 semanas, seguido de un período de recuperación de 14 días. La variante B13a/B13b tiene un % sustraído del vehículo de cambio en el peso corporal superior al 20 % después de 14 días de recuperación después de la dosificación.

La figura 5 representa la reducción en el peso corporal en el modelo de ratón DIO tras el suministro subcutáneo de 4,0 nmol/kg de complejos (Fc/Fc)-GDF15, una vez a la semana durante 4 semanas, seguido de un período de recuperación de 14 días.

La figura 6 representa el porcentaje de reducción en el peso corporal en el modelo de ratón DIO tras el suministro subcutáneo de 4,0 nmol/kg de complejos (Fc/Fc)-GDF15, una vez a la semana durante 4 semanas, seguido de un período de recuperación de 14 días.

Las figuras 7 y 8 resumen las disminuciones de peso corporal observadas (incluyendo SEM y valores-p) para cada grupo de ratones DIO (n=6) para grupos de dosis de 0,4 nmol/kg y 4,0 nmol/kg representados en las figuras 3 y 5. Para todos los grupos, (* = p < 0,05, ** = p < 0,01 y *** = p < 0,001) a través de la prueba t independiente.

La figura 9 resume el porcentaje de disminución del peso corporal (incluido SEM y los valores p) para cada grupo de ratones DIO (n = 6) para grupos de dosis de 0,4 nmol/kg y 4,0 nmol/kg representados en las figuras 4 y 6. Para todos los grupos, (* = p < 0,05, ** = p < 0,01 y *** = p < 0,001) a través de la prueba t independiente.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

Antes de que los procedimientos y las composiciones de la presente descripción se describan adicionalmente, se debe entender que la descripción no se limita a las realizaciones particulares expuestas en esta invención, y también se debe entender que la terminología utilizada en esta invención tiene el propósito de describir solo realizaciones particulares, y no pretende ser limitativa.

60 Cuando se proporciona un intervalo de valores, se entiende que cada valor intermedio, hasta la décima parte de la unidad del límite inferior, a menos que el contexto indique claramente lo contrario, entre el límite superior y el inferior

de ese intervalo, y cualquier otro valor establecido o intermedio en ese intervalo establecido, queda comprendido dentro de la invención. Los límites superiores e inferiores de estos intervalos menores pueden estar incluidos de forma independiente en los intervalos menores también comprendidos dentro de la invención, sujetos a cualquier límite específicamente excluido en el intervalo indicado. Cuando el intervalo indicado incluye uno o ambos límites, los intervalos que excluyen cualquiera o ambos de los límites incluidos también se incluyen en la invención. A menos que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos usados en esta invención tienen el mismo significado que se entiende habitualmente por un experto en la materia a la que pertenece esta invención.

- Cabe señalar que tal como se usa en esta invención y en las reivindicaciones adjuntas, las formas en singular "un/o", "una" y "el/la" incluyen referencias en plural, a menos que el contexto indique claramente lo contrario. Así, por ejemplo, la referencia a "el complejo" incluye la referencia a uno o más complejos, y así sucesivamente. Se observa además que las reivindicaciones pueden ser redactadas de forma que excluyan cualquier elemento opcional. Como tal, esta declaración tiene la intención de servir como base antecedente para el uso de tal terminología exclusiva tal como "únicamente", "solo" y similares en relación con la mención de elementos de reivindicación, o el uso de una limitación "negativa".

- Las publicaciones analizadas en esta invención se proporcionan únicamente por su descripción antes de la fecha de presentación de la presente solicitud. No debe interpretarse que nada en esta invención constituya una admisión de que la presente invención no tenga derecho a anteponer tal publicación por virtud de una invención anterior. Además, las fechas de publicación proporcionadas pueden ser diferentes de las fechas de publicación reales, lo que podría necesitar ser confirmado de manera independiente.

Definiciones

- Los términos "polipéptido", "péptido" y "proteína", usados indistintamente en esta invención, se refieren a una forma polimérica de aminoácidos de cualquier longitud, que puede incluir aminoácidos codificados genéticamente y codificados no genéticamente, aminoácidos modificados o derivados químicamente o bioquímicamente, y polipéptidos que tienen cadenas principales de polipéptidos modificados. El término incluye proteínas de fusión, que incluyen, pero sin limitación, proteínas de fusión con una secuencia de aminoácidos heteróloga, proteínas de fusión con secuencias líder heterólogas y homólogas, con o sin residuos de metionina en el extremo N; proteínas marcadas inmunológicamente; y similares. En realizaciones específicas, los términos se refieren a una forma polimérica de aminoácidos de cualquier longitud que incluyen aminoácidos codificados genéticamente. En realizaciones particulares, los términos se refieren a una forma polimérica de aminoácidos de cualquier longitud que incluye aminoácidos codificados genéticamente fusionados a una secuencia de aminoácidos heteróloga. En realizaciones particulares, los términos se refieren a un aminoácido de 98-112 aminoácidos de longitud, opcionalmente fusionado a una secuencia heteróloga. En realizaciones específicas, según proceda, cuando se hace referencia a las proteínas y moléculas de reveladas y descritas en esta invención, los términos "polipéptido", "péptido" y "proteína" se refieren a polipéptidos tal como se define en esta invención.
- El término "complejo" tal como se utiliza en esta invención se refiere a un complejo de proteína que comprende al menos dos polipéptidos, cada uno de los polipéptidos comprenden un extremo N y un extremo C. Los al menos dos polipéptidos pueden estar asociados entre sí a través de uno o ambos de una interacción covalente y no-covalente (por ejemplo, electrostática, efectos π , fuerzas van der Waals, y efectos hidrófobos). Los al menos dos polipéptidos pueden ser el mismo, es decir, tienen secuencia de aminoácidos idéntica o pueden ser diferentes, es decir, no tienen secuencias de aminoácidos idénticas. Un complejo que tiene dos polipéptidos, donde ambos polipéptidos son idénticos, se denomina un homodímero. Un complejo que tiene dos polipéptidos, donde los polipéptidos son diferentes, se conoce como un heterodímero. Un complejo que tiene tres polipéptidos, donde los tres polipéptidos son idénticos, se conoce como un homotrímero. Un complejo que tiene tres polipéptidos, donde al menos uno de los tres polipéptidos es diferente del otro polipéptido(s), se conoce como un heterotrímero. Un complejo que tiene cuatro polipéptidos, donde los cuatro polipéptidos son idénticos, se conoce como un homotetrámero. Un complejo que tiene cuatro polipéptidos, donde al menos uno de los cuatro polipéptidos es diferente del otro polipéptido(s), se conoce como un heterotetrámero. Un complejo de ejemplo de cuatro polipéptidos-dos moléculas de un primer polipéptido y dos moléculas de un segundo polipéptido, donde el primer polipéptido se dimeriza con el segundo polipéptido para formar un heterodímero y donde dos de tales heterodímeros se dimerizan para formar el complejo puede ser denominado como un complejo homodimérico de los dos heterodímeros.

- La presente descripción contempla complejos tal como se definen anteriormente, incluyendo, pero sin limitarse a un heterodímero que tiene un primer polipéptido asociado con un segundo polipéptido, donde el primer polipéptido es un Fc "botón" y el segundo polipéptido es un Fc "ojal", y donde el primer polipéptido o el segundo polipéptido está fusionado a una secuencia de aminoácidos GDF15 (o muteína GDF15, tal como, una muteína GDF15 descrita en esta invención). El primer y segundo polipéptidos pueden estar asociados físicamente uno con el otro a través de una interacción no-covalente (por ejemplo, efectos hidrófobos, tales como, la interacción hidrófoba entre las regiones de

botón y ojal de la Fc), un enlace covalente (por ejemplo, un enlace disulfuro, tal como, uno o dos o más enlaces disulfuro entre las regiones bisagra de la Fc en el primer y segundo polipéptidos), o ambos.

La presente descripción contempla también un complejo que incluye dos heterodímeros asociados entre sí, teniendo cada heterodímero un primer polipéptido y un segundo polipéptido, donde el primer polipéptido es un Fc "botón" y el segundo polipéptido es un Fc "ojal", y donde el primer polipéptido o el segundo polipéptido se fusionan a una secuencia de aminoácidos GDF15 (o muteína GDF15). Dentro del complejo, los dos heterodímeros pueden estar asociados físicamente por una interacción no-covalente (por ejemplo, interacción hidrófoba), un enlace covalente (por ejemplo, un enlace disulfuro), o ambos. El primer y el segundo polipéptidos en cada uno de los heterodímeros en el complejo pueden estar físicamente asociados entre sí por una interacción no covalente (por ejemplo, efectos hidrófobos), un enlace covalente (por ejemplo, un enlace disulfuro), o ambos.

La presente descripción contempla también un complejo que incluye dos heterodímeros asociados entre sí, teniendo cada heterodímero un primer polipéptido y un segundo polipéptido, donde el primer polipéptido es un Fc "botón" y el segundo polipéptido es un Fc "ojal", y donde el primer polipéptido o el segundo polipéptido se fusionan a una secuencia de aminoácidos GDF15 (o muteína GDF15). Dentro del complejo, los dos heterodímeros pueden estar asociados físicamente por una interacción no covalente (por ejemplo, efectos hidrófobos) o una interacción covalente (por ejemplo, enlace(s) disulfuro) entre los polipéptidos GDF15 y el primer y segundo polipéptidos en cada uno de los heterodímeros puede estar asociada físicamente entre sí por una interacción no-covalente (por ejemplo, botón en ojal), un enlace covalente (por ejemplo, un enlace disulfuro), o ambos.

Los términos "paciente" o "sujeto" se usan indistintamente para referirse a un animal humano o no humano (por ejemplo, un mamífero).

Los términos "tratar", "tratando", tratamiento "y similares se refieren a un curso de acción (tal como administrar un agente, por ejemplo, un polipéptido, un complejo o una composición farmacéutica que comprende un polipéptido, un complejo) iniciado después de que una enfermedad, trastorno o afección, o un síntoma de los mismos, haya sido diagnosticado, observado y similar para eliminar, reducir, suprimir, mitigar o mejorar, temporal o permanentemente, al menos una de las causas subyacentes de una enfermedad, trastorno o afección que afecta a un sujeto, o al menos uno de los síntomas asociados con una enfermedad, trastorno o afección que afecta a un sujeto. Por lo tanto, el tratamiento incluye inhibir (es decir, detener el desarrollo o desarrollo adicional de la enfermedad, trastorno o afección o asociación de síntomas clínicos con los mismos) una enfermedad activa (por ejemplo, para disminuir el nivel de insulina y/o glucosa en el torrente sanguíneo, para aumentar la tolerancia a la glucosa para minimizar la fluctuación de los niveles de glucosa y/o para proteger contra las enfermedades causadas por la interrupción de la homeostasis de la glucosa, disminuir el peso corporal, detener el aumento del peso corporal).

El término "con necesidad de tratamiento", como se usa en esta invención, se refiere a un juicio emitido por un médico u otro cuidador de que un sujeto requiere o se beneficiará del tratamiento. Este juicio se basa en una variedad de factores que se encuentran en el ámbito de la experiencia del médico o cuidador.

Los términos "prevenir", "previniendo", "prevención" y similares se refieren a un curso de acción (tal como administrar un agente, por ejemplo, un polipéptido, un complejo o una composición farmacéutica que comprende un polipéptido, un complejo) iniciado de un modo (por ejemplo, antes de la aparición de una enfermedad, trastorno, afección o síntoma de los mismos) para prevenir, suprimir, inhibir o reducir, ya sea temporal o permanentemente, el riesgo de un sujeto de desarrollar una enfermedad, trastorno, afección o similar (según lo determinado, por ejemplo, por la ausencia de síntomas clínicos) o retrasar su aparición, generalmente en el contexto de un sujeto predispuesto a tener una enfermedad, trastorno o afección particular. En determinados casos, las expresiones también se refieren a ralentizar la evolución de la enfermedad, trastorno o afección, o inhibir la evolución de los mismos a un estado nocivo o de otro modo indeseado.

El término "con necesidad de prevención", como se usa en esta invención, se refiere a un juicio emitido por un médico u otro cuidador de que un sujeto requiere o se beneficiará de la atención preventiva. Este juicio se basa en una variedad de factores que se encuentran en el ámbito de la experiencia de un médico o cuidador.

La frase "cantidad terapéuticamente efectiva" se refiere a la administración de un agente a un sujeto, ya sea solo o como parte de una composición farmacéutica y en una sola dosis o como parte de una serie de dosis, en una cantidad que es capaz de tener un efecto positivo detectable sobre cualquier síntoma, aspecto o características de una enfermedad, trastorno o afección cuando se administra a un paciente. La cantidad terapéuticamente efectiva se puede determinar midiendo los efectos fisiológicos relevantes. Por ejemplo, en el caso de una afección hiperglucémica, una disminución o reducción de la glucosa en sangre o una mejora en la prueba de la tolerancia a la glucosa se puede utilizar para determinar si la cantidad de un agente es efectiva para tratar la afección hiperglucémica. Por ejemplo, una cantidad terapéuticamente efectiva es una cantidad suficiente para reducir o disminuir cualquier nivel (por ejemplo, un

nivel de punto de referencia) de glucosa en plasma en ayunas (FPG, por sus siglas en inglés), donde por ejemplo, la cantidad es suficiente para reducir un nivel de FPG mayor que 200 mg/dl a menos de 200 mg/dl, donde la cantidad es suficiente para reducir un nivel de FPG entre 175 mg/dl y 200 mg/dl a menos del nivel de inicio, donde la cantidad es suficiente para reducir un nivel de FPG entre 150 mg/dl y 175 mg/dl a menos del nivel de inicio, donde la cantidad es suficiente para reducir un nivel de FPG entre 125 mg/dl y 150 mg/dl a menos del nivel de inicio, y así sucesivamente (por ejemplo, reducir los niveles de FPG a menos de 125 mg/dl, a menos de 120 mg/dl, a menos de 115 mg/dl, a menos de 110 mg/dl, etc.). En el caso de los niveles de HbA1c, la cantidad efectiva es una cantidad suficiente para reducir o disminuir los niveles en más de aproximadamente el 10 % al 9 %, en más de aproximadamente el 9 % al 8 %, en más de aproximadamente el 8 % al 7 %, en más de aproximadamente el 7 % al 6 %, en más de aproximadamente el 6 % al 5 %, y así sucesivamente. Más particularmente, una reducción o disminución de los niveles de HbA1c en aproximadamente el 0,1 %, 0,25 %, 0,4 %, 0,5 %, 0,6 %, 0,7 %, 0,8 %, 0,9 %, 1 %, 1,5 %, 2 %, 3 %, 4 %, 5 %, 10 %, 20 %, 30 %, 33 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 % o más se contempla en la presente descripción. La cantidad terapéuticamente efectiva se puede ajustar en relación con el régimen de dosificación y el análisis de diagnóstico de la afección del sujeto y similares.

La frase "en una cantidad suficiente para efectuar un cambio" significa que hay una diferencia detectable entre un nivel de un indicador medido antes (por ejemplo, un nivel de punto de referencia) y después de la administración de una terapia particular. Los indicadores incluyen cualquier parámetro objetivo (por ejemplo, nivel de glucosa o insulina o ingesta de alimentos o peso corporal) o parámetro subjetivo (por ejemplo, la sensación de bienestar o apetito de un sujeto).

La frase "tolerancia a la glucosa", como se usa en esta invención, se refiere a la capacidad de un sujeto para controlar el nivel de glucosa en plasma y/o insulina en plasma cuando fluctúa la ingesta de glucosa. Por ejemplo, la tolerancia a la glucosa abarca la capacidad del sujeto para reducir, en aproximadamente 120 minutos, el nivel de glucosa en plasma de vuelta a un nivel determinado antes de la ingesta de glucosa.

Los términos "diabetes" y "diabético" se refieren a una enfermedad progresiva del metabolismo de carbohidratos que implica una producción o utilización inadecuada de insulina, caracterizada frecuentemente por hiperglucemia y glucosuria. Los términos "pre-diabetes" y "pre-diabético" se refieren a un estado donde un sujeto no tiene las características, síntomas y similares típicamente observados en la diabetes, pero tiene características, síntomas y similares que, si no se tratan, pueden evolucionar a diabetes. La presencia de estas afecciones se puede determinar utilizando, por ejemplo, la prueba de glucosa en plasma en ayunas (FPG) o la prueba de tolerancia a la glucosa oral (OGTT, por sus siglas en inglés). Ambas usualmente requieren que un sujeto ayune durante al menos 8 horas antes de iniciar la prueba. En la prueba FPG, la glucosa en sangre de un sujeto se mide después del final del ayuno; generalmente, el sujeto ayuna durante la noche y la glucosa en sangre se mide por la mañana antes de que el sujeto coma. Un sujeto sano generalmente tendría una concentración de FPG entre aproximadamente 90 y aproximadamente 100 mg/dl, un sujeto con "pre-diabetes" generalmente tendría una concentración de FPG entre aproximadamente 100 y aproximadamente 125 mg/dl, y un sujeto con "diabetes" generalmente tendría un nivel de FPG superior a aproximadamente 126 mg/dl. En la OGTT, la glucosa en sangre de un sujeto se mide después del ayuno y de nuevo dos horas después de beber una bebida rica en glucosa. Dos horas después del consumo de la bebida rica en glucosa, un sujeto sano generalmente tiene una concentración de glucosa en sangre menor de aproximadamente 140 mg/dl, un sujeto pre-diabético generalmente tiene una concentración de glucosa en sangre de aproximadamente 140 a aproximadamente 199 mg/dl, y un sujeto diabético generalmente tiene una concentración de glucosa en sangre de aproximadamente 200 mg/dl o superior. Mientras que los valores glucémicos anteriormente mencionados pertenecen a sujetos humanos, la normoglucemia, hiperglucemia moderada e hiperglucemia aparente varían de forma diferente en los sujetos murinos. Un sujeto murino sano después de un ayuno de cuatro horas generalmente tendría una concentración de FPG entre aproximadamente 100 y aproximadamente 150 mg/dl, un sujeto murino con "pre-diabetes" generalmente tendría una concentración de FPG entre aproximadamente 175 y aproximadamente 250 mg/dl y un sujeto murino con "diabetes" generalmente tendría una concentración de FPG superior a aproximadamente 250 mg/dl.

El término "resistencia a la insulina" como se usa en esta invención se refiere a una afección donde una cantidad normal de insulina no puede producir una respuesta fisiológica o molecular normal. En algunos casos, una cantidad hiper-fisiológica de insulina, ya sea producida de forma endógena o administrada de forma exógena, es capaz de superar la resistencia a la insulina, en su totalidad o en parte, y producir una respuesta biológica.

El término "síndrome metabólico" se refiere a un grupo asociado de rasgos que incluye, entre otros, hiperinsulinemia, tolerancia anormal a la glucosa, obesidad, redistribución de la grasa en el compartimento abdominal o superior del cuerpo, hipertensión, dislipidemia caracterizada por triglicéridos altos, colesterol de lipoproteínas de alta y baja densidad (HDL) y partículas altas, pequeñas y densas de lipoproteína de baja densidad (LDL). Los sujetos que tienen el síndrome metabólico están en riesgo de desarrollar diabetes de Tipo 2 y/u otros trastornos (por ejemplo, aterosclerosis).

La frase "trastorno del metabolismo de la glucosa" abarca cualquier trastorno caracterizado por un síntoma clínico o una combinación de síntomas clínicos que se asocia con un nivel elevado de glucosa y/o un nivel elevado de insulina en un sujeto en relación con un individuo sano. Los niveles elevados de glucosa y/o insulina pueden manifestarse en las siguientes enfermedades, trastornos y afecciones: hiperglucemia, diabetes tipo II, diabetes gestacional, diabetes tipo I, resistencia a la insulina, tolerancia alterada a la glucosa, hiperinsulinemia, metabolismo alterado de la glucosa, pre-diabetes, otros trastornos metabólicos (tales como el síndrome metabólico, que también se conoce como síndrome X) y la obesidad, entre otros. Los complejos de la presente descripción, y las composiciones de los mismos, se pueden usar, por ejemplo, para lograr y/o mantener la homeostasis de glucosa, por ejemplo, para reducir el nivel de glucosa en el torrente sanguíneo y/o para reducir el nivel de insulina a un intervalo que se encuentra en un sujeto sano.

El término "hiperglucemia", como se usa en esta invención, se refiere a una afección en la que una cantidad elevada de glucosa circula en el plasma sanguíneo de un sujeto con respecto a un individuo sano. La hiperglucemia puede diagnosticarse usando procedimientos conocidos en la técnica, incluyendo la medición de los niveles de glucosa en sangre en ayuno como se describe en esta invención.

El término "hiperinsulinemia", como se usa en esta invención, se refiere a una afección en la que hay niveles elevados de insulina circulante cuando, simultáneamente, los niveles de glucosa en sangre son elevados o normales. La hiperinsulinemia puede ser causada por la resistencia a la insulina que está asociada con la dislipidemia, tal como triglicéridos altos, colesterol alto, lipoproteína de baja densidad alta (LDL) y lipoproteína de alta densidad baja (HDL); niveles de ácido úrico altos; síndrome de ovario poliquístico; diabetes tipo II y obesidad. La hiperinsulinemia se puede diagnosticar como que tiene un nivel de insulina en plasma mayor de aproximadamente 2 $\mu\text{U/mL}$.

Como se usa en esta invención, la frase "trastorno del peso corporal" se refiere a afecciones asociadas con un peso corporal excesivo y/o apetito aumentado. Se utilizan varios parámetros para determinar si un sujeto tiene sobrepeso en comparación con un individuo sano de referencia, incluida la edad, la altura, el sexo y el estado de salud del sujeto. Por ejemplo, un sujeto puede considerarse con sobrepeso u obeso mediante la evaluación del índice de masa corporal (IMC) del sujeto, que se calcula dividiendo el peso de un sujeto en kilogramos por la altura del sujeto en metros cuadrados. Se considera que un adulto que tiene un IMC en el intervalo de $\sim 18,5$ a $\sim 24,9 \text{ kg/m}^2$ tiene un peso normal; un adulto que tiene un IMC entre ~ 25 y $\sim 29,9 \text{ kg/m}^2$ puede considerarse con sobrepeso (pre-obeso); y un adulto que tiene un IMC de $\sim 30 \text{ kg/m}^2$ o superior puede considerarse obeso. El apetito aumentado con frecuencia contribuye al peso corporal excesivo. Existen varias afecciones asociadas con el apetito aumentado, que incluyen, por ejemplo, el síndrome de alimentación nocturna, que se caracteriza por la anorexia matutina y la polifagia por la noche que se asocia con frecuencia con el insomnio, pero que puede estar relacionado con daño en el hipotálamo.

El término "activadores" se refiere a agentes que, por ejemplo, estimulan, aumentan, activan, facilitan, mejoran la activación, sensibilizan o regulan la función o actividad de uno o más agentes, por ejemplo, polipéptidos o complejos utilizados para tratar o prevenir un trastorno metabólico. Además, los activadores incluyen agentes que operan a través del mismo mecanismo de acción que los polipéptidos de la presente invención (es decir, agentes que modulan la misma vía de señalización que los polipéptidos de una manera análoga a la de los polipéptidos) y son capaces de suscitar una respuesta biológica que se compara con (o es mayor que) aquella de los polipéptidos. Los ejemplos de los activadores incluyen agonistas tales como compuestos de moléculas pequeñas.

El término "moduladores" se refiere colectivamente a los polipéptidos de la presente invención y los activadores.

Los términos "modular", "modulación" y similares se refieren a la capacidad de un agente (por ejemplo, un activador) para aumentar la función o actividad de uno o más polipéptidos (o las moléculas de ácido nucleico que los codifican), directa o indirectamente; o a la capacidad de un agente para producir un efecto comparable al de uno o más polipéptidos.

Se apreciará que a lo largo de esta descripción se hace referencia a aminoácidos según los códigos de una letra o tres letras. Para conveniencia del lector, los códigos de aminoácidos de una y tres letras se proporcionan a continuación:

G	Glicina	Gly	P	Prolina	Pro
A	Alanina	Ala	V	Valina	Val
L	Leucina	Leu	I	Isoleucina	Ile
M	Metionina	Met	C	Cisteína	Cys
F	Fenilalanina	Phe	Y	Tirosina	Tyr
W	Triptófano	Trp	H	Histidina	His

K	Lisina	Lys	R	Arginina	Arg
Q	Glutamina	Gln	N	Asparagina	Asn
E	Ácido glutámico	Glu	D	Ácido aspártico	Asp
S	Serina	Ser	T	Treonina	Thr

Como se usa en esta invención, el término "variante" abarca variantes de origen natural (por ejemplo, homólogos y variantes alélicas) y variantes de origen no natural (por ejemplo, modificadas de forma recombinante). Las variantes de origen natural incluyen homólogos, es decir, ácidos nucleicos y polipéptidos que difieren en secuencia de nucleótidos o aminoácidos, respectivamente, de una especie a otra. Las variantes de origen natural incluyen variantes alélicas, es decir, ácidos nucleicos y polipéptidos que difieren en secuencia de nucleótidos o aminoácidos, respectivamente, de un individuo a otro dentro de una especie. Las variantes de origen no natural incluyen ácidos nucleicos y polipéptidos que comprenden un cambio en la secuencia de nucleótidos o aminoácidos, respectivamente, donde el cambio en la secuencia se introduce artificialmente, por ejemplo, el cambio se genera en el laboratorio u otra instalación por intervención humana ("mano del hombre").

El término "nativo" o "tipo salvaje", en referencia a GDF15, se refiere a GDF15 de origen natural biológicamente activo, que incluye variantes de GDF15 de origen natural biológicamente activo. El término incluye la secuencia madura de GDF15 humana de 112 aminoácidos (SEQ ID NO: 1).

El término "muteínas" como se usa en esta invención se refiere ampliamente a proteínas recombinantes, es decir, un polipéptido que comprende un cambio introducido artificialmente en la secuencia de aminoácidos, por ejemplo, un cambio en la secuencia de aminoácidos generada en el laboratorio u otra instalación por intervención humana ("mano de hombre"). Estos polipéptidos usualmente portan sustituciones o eliminaciones de aminoácidos únicas o múltiples y se derivan frecuentemente de genes clonados que se sometieron a mutagénesis de sitio dirigido o aleatoria o de genes completamente sintéticos. Las "muteínas GDF15" de la presente descripción abarcan, por ejemplo, sustituciones de aminoácidos y/o eliminaciones de aminoácidos (por ejemplo, truncamientos de N-terminal de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 o 14 o más aminoácidos) en relación con un polipéptido de referencia, por ejemplo, en relación con GDF15 humano maduro de tipo salvaje/nativo (SEQ ID NO: 1).

Como se usa en esta invención en referencia a GDF15 humano nativo o una muteína GDF15, los términos "modificado", "modificación" y similares se refieren a uno o más cambios que modifican una propiedad de un GDF15 humano, una variante de GDF15 de origen natural, o una muteína GDF15, donde el cambio no altera la secuencia de aminoácidos primaria del polipéptido GDF15 (nativo o muteína) en sí. Tal propiedad incluye, por ejemplo, la solubilidad, vida media de circulación, estabilidad, depuración, inmunogenicidad o alergenicidad y capacidad de fabricación (por ejemplo, coste y eficacia). La "modificación" incluye una modificación química covalente que no altera la secuencia de aminoácidos primaria del polipéptido GDF15 (nativo o muteína) en sí. Los cambios en el GDF15 humano, una variante de GDF15 de origen natural o una muteína GDF15 que se puede llevar a cabo incluyen, entre otros, una o más de pegilación (unión covalente de una o más moléculas de polietilenglicol (PEG), o derivados de los mismos); glicosilación (por ejemplo, N-glicosilación), polisilación y hesilación; fusión de proteínas de unión a maltosa; fusión de albúmina (por ejemplo, fusión de HSA); albúmina que se une a través de, por ejemplo, una cadena de ácido graso conjugado (acilación); Fc-fusión; y fusión con un mimético de PEG. Algunas realizaciones particulares conllevan modificaciones que implican fusión a un Fc, y aún otras modificaciones particulares conllevan modificaciones que implican glicosilación, o una combinación de las mismas.

Los términos "ADN", "ácido nucleico", "molécula de ácido nucleico", "polinucleótido" y similares se usan indistintamente en esta invención para referirse a una forma polimérica de nucleótidos de cualquier longitud, ya sea desoxirribonucleótidos o ribonucleótidos, o análogos de los mismos. Ejemplos no limitativos de polinucleótidos incluyen ácidos nucleicos lineales y circulares, ARN mensajero (ARNm), ADN complementario (ADNc), polinucleótidos recombinantes, vectores, sondas, cebadores y similares.

El término "sonda" se refiere a un fragmento de ADN o ARN correspondiente a un gen o secuencia de interés, donde el fragmento ha sido marcado radioactivamente (por ejemplo, incorporando ³²P o ³⁵S) o con alguna otra molécula detectable, tal como biotina, digoxigenina o fluoresceína. A medida que se hibridan extensiones de ADN o ARN con secuencias complementarias, puede usarse una sonda, por ejemplo, para etiquetar placas virales, colonias bacterianas o bandas en un gel que contienen el gen de interés. Una sonda puede ser ADN clonado o puede ser una hebra de ADN sintético; este último puede usarse para obtener un ADNc o clon genómico de una proteína aislada mediante, por ejemplo, una microsecuencia de una porción de la proteína, deduciendo la secuencia de ácido nucleico que codifica la proteína, sintetizando un oligonucleótido que porta esta secuencia, radioetiquetando la secuencia y usándola como una sonda para analizar una biblioteca de ADNc o una biblioteca genómica.

El término "heterólogo" se refiere a dos componentes que están definidos por estructuras derivadas de diferentes fuentes. Por ejemplo, en el contexto de un polipéptido, un polipéptido "heterólogo" puede incluir secuencias de aminoácidos unidas operativamente que se derivan de diferentes polipéptidos (por ejemplo, un primer componente
5 que comprende un polipéptido recombinante y un segundo componente derivado de un polipéptido GDF15 nativo). De manera similar, en el contexto de un polinucleótido que codifica un polipéptido quimérico, un polinucleótido "heterólogo" puede incluir secuencias de ácido nucleico unidas operativamente que pueden derivarse de diferentes genes (por ejemplo, un primer componente de un ácido nucleico que codifica un polipéptido según una realización descrita en esta invención y un segundo componente de un ácido nucleico que codifica un polipéptido transportador).
10 Otros ácidos nucleicos "heterólogos" ejemplares incluyen construcciones de expresión en las que un ácido nucleico que comprende una secuencia de codificación está operativamente unido a un elemento regulador (por ejemplo, un promotor) que es de un origen genético diferente del de la secuencia de codificación (por ejemplo, para proporcionar para la expresión en una célula huésped de interés, que puede ser de origen genético diferente que el promotor, la secuencia de codificación o ambas). Por ejemplo, se dice que un promotor T7 unido operativamente a un polinucleótido
15 que codifica un polipéptido GDF15 o dominio de este es un ácido nucleico heterólogo. En el contexto de las células recombinantes, "heterólogo" puede referirse a la presencia de un ácido nucleico (o producto génico, tal como un polipéptido) que es de un origen genético diferente al de la célula huésped en la que está presente.

El término "operativamente unido" se refiere al enlace entre moléculas para proporcionar una función deseada. Por
20 ejemplo, "unido operativamente" en el contexto de ácidos nucleicos se refiere a un enlace funcional entre secuencias de ácido nucleico. A modo de ejemplo, una secuencia de control de expresión de ácido nucleico (tal como un promotor, una secuencia de señal o una matriz de sitios de unión del factor de transcripción) puede estar unida de forma operativa a un segundo polinucleótido, donde la secuencia de control de expresión afecta a la transcripción y/o la traducción del segundo polinucleótido. En el contexto de un polipéptido, "unido operativamente" se refiere a un enlace funcional entre
25 secuencias de aminoácidos (por ejemplo, diferentes dominios) para proporcionar una actividad descrita del polipéptido.

Como se usa en esta invención en el contexto de la estructura de un polipéptido, "extremo N" (o "extremo amino") y "extremo C" (o "extremo carboxilo") se refieren a los extremos carboxilo y amino de extremo polipéptido, respectivamente, mientras que los términos "N-terminal" y "C-terminal" se refieren a posiciones relativas en la
30 secuencia de aminoácidos del polipéptido hacia el extremo N y el extremo C, respectivamente, y pueden incluir los residuos en el extremo N y el extremo C, respectivamente. "Inmediatamente N-terminal" o "inmediatamente C-terminal" se refiere a una posición de un primer residuo de aminoácido con respecto a un segundo residuo de aminoácido donde el primer y el segundo residuo de aminoácido están unidos covalentemente para proporcionar una secuencia de aminoácidos contigua.

"Derivado de", en el contexto de una secuencia de aminoácidos o una secuencia de polinucleótidos (por ejemplo, una
35 secuencia de aminoácidos "derivada de" un polipéptido GDF15), pretende indicar que el polipéptido o ácido nucleico tiene una secuencia que se basa en la de un polipéptido o ácido nucleico de referencia (por ejemplo, un polipéptido GDF15 de origen natural o un ácido nucleico de codificación de GDF15), y no pretende ser limitante en cuanto a la
40 fuente o procedimiento en el que se produce la proteína o el ácido nucleico. A modo de ejemplo, el término "derivado de" incluye homólogos o variantes de aminoácidos de referencia o secuencias de ADN.

En el contexto de un polipéptido, el término "aislado" se refiere a un polipéptido de interés que, si es de origen natural, se encuentra en un entorno diferente de aquel en el que puede producirse de forma natural. Se entiende que "aislado"
45 incluye polipéptidos que están dentro de muestras que están sustancialmente enriquecidas para el polipéptido de interés y/o en las que el polipéptido de interés está purificado parcial o sustancialmente. Cuando el polipéptido no se produce de forma natural, "aislado" indica que el polipéptido ha sido separado de un entorno en el que se hizo por medios sintéticos o recombinantes.

"Enriquecido" significa que una muestra se manipula de forma no natural (por ejemplo, en un laboratorio, por ejemplo, por un científico o un médico) de modo que un polipéptido de interés esté presente en a) una concentración mayor (por ejemplo, al menos 3- veces mayor, al menos 4 veces mayor, al menos 8 veces mayor, al menos 64 veces mayor o más) que la concentración del polipéptido en la muestra inicial, tal como una muestra biológica (por ejemplo, una muestra en la que el polipéptido se produce de forma natural o en el que está presente después de la administración),
55 o b) una concentración mayor que el entorno en el que se formó el polipéptido (por ejemplo, como en una célula bacteriana).

"Sustancialmente puro" indica que un componente (por ejemplo, un polipéptido, un dímero, un tetramero, un complejo) constituye más de aproximadamente el 50 % del contenido total de la composición, y típicamente más de
60 aproximadamente el 60 % del contenido del polipéptido total. Más típicamente, "sustancialmente puro" se refiere a composiciones en las que al menos el 75 %, al menos el 85 %, al menos el 90 % o más de la composición total es el componente de interés. En algunos casos, el componente constituirá más de aproximadamente el 90 %, o más de

aproximadamente el 95 % del contenido total de la composición.

Los términos "anticuerpos" (Abs) e "inmunoglobulinas" (Igs) se refieren a glicoproteínas que tienen las mismas características estructurales. Mientras que los anticuerpos exhiben especificidad de unión a un antígeno específico, las inmunoglobulinas incluyen ambos anticuerpos y otras moléculas similares a anticuerpos que carecen de especificidad de antígeno. Los anticuerpos se describen detalladamente a continuación.

El término "anticuerpo monoclonal" se refiere a un anticuerpo obtenido de una población de anticuerpos sustancialmente homogéneos, es decir, los anticuerpos individuales que comprenden la población son idénticos, excepto por posibles mutaciones de origen natural que pueden estar presentes en cantidades menores. Los anticuerpos monoclonales son altamente específicos, y se dirigen contra un único sitio antigénico. En contraste con las preparaciones de anticuerpos policlonales, que pueden incluir diferentes anticuerpos dirigidos contra diferentes determinantes (epítopos), cada anticuerpo monoclonal se dirige contra un determinante único en el antígeno.

En el contexto de un anticuerpo, el término "aislado" se refiere a un anticuerpo que se ha separado y/o recuperado de componentes contaminantes de su entorno natural; tales componentes contaminantes incluyen materiales que pueden interferir con los usos diagnósticos o terapéuticos del anticuerpo, y pueden incluir enzimas, hormonas y otros solutos proteínicos o no proteínicos.

La frase "sustitución conservadora de aminoácidos" se refiere a la sustitución de residuos de aminoácidos dentro de los siguientes grupos: 1) L, I, M, V, F; 2) R, K; 3) F, Y, H, W, R; 4) G, A, T, S; 5) Q, N; y 6) D, E. Las sustituciones conservadoras de aminoácidos pueden preservar la actividad de la proteína al reemplazar uno o más aminoácidos en la proteína con un aminoácido con una cadena lateral de acidez, basicidad, carga, polaridad o tamaño similar de la cadena lateral. La guía para las sustituciones, inserciones o eliminaciones puede basarse en alineaciones de secuencias de aminoácidos de diferentes proteínas variantes o proteínas de diferentes especies.

Factor de diferenciación de crecimiento 15 (GDF15)

GDF15, también conocido como MIC-1 (citocina-1 inhibidora de macrófagos), PDF (factor de diferenciación de próstata), PLAB (proteína morfogenética ósea de la placenta), NAG-1 (gen activado por antiinflamatorios no esteroideos (AINE)), TGF-PL, y PTGFB, es un miembro de la superfamilia del factor de crecimiento transformante β (TGF- β). El GDF15, que se sintetiza como una proteína precursora intracelular de 62 kDa que es escindida posteriormente por una proteasa similar a la furina, se secreta como una proteína unida a disulfuro de 25 kDa. (Véase, por ejemplo, Fairlie y col., J. Leukoc. Biol 65:2-5 (1999)). El ARNm del GDF15 se muestra en varios tejidos, que incluyen el hígado, riñón, páncreas, colon y placenta y la expresión de GDF15 en el hígado puede ser significativamente incrementada durante el daño de órganos tales como el hígado, riñones, corazón y pulmones.

El precursor de GDF15 es un polipéptido de 308 aminoácidos (NCBI Ref. Seq.NP_004855.2) que contiene un péptido de señal de 29 aminoácidos, un pro-dominio de 167 aminoácidos y un dominio maduro de 112 aminoácidos que es eliminado del pro-dominio por proteasas de tipo furina. Un polipéptido GDF15 de 308 aminoácidos se denomina polipéptido GDF15 de "longitud completa"; un polipéptido GDF15 de 112 aminoácidos (197-308 aminoácidos de GDF15 de "longitud completa") es un polipéptido GDF15 "maduro" (SEQ ID NO: 1). A menos que se indique lo contrario, el término "GDF15" se refiere a la secuencia humana madura de 112 aminoácidos. Además, las referencias numéricas a residuos particulares de GDF15 se refieren a la secuencia madura de 112 aminoácidos (es decir, el residuo 1 es Ala (A) y el residuo 112 es Ile (I); véase la SEQ ID NO: 1). Cabe destacar que, mientras que la secuencia de aminoácidos precursora de GDF15 predice tres sitios de escisión, lo que resulta en tres formas putativas de GDF15 humano "maduro" (es decir, 110, 112 y 115 aminoácidos), la secuencia madura de 112 aminoácidos se acepta como correcta.

El alcance de la presente descripción incluye ortólogos GDF15 y formas modificadas de los mismos, de otras especies de mamíferos, y su uso, incluido el ratón (NP_035949), chimpancé (XP_524157), orangután (XP_002828972), mono Rhesus (EHH29815), panda gigante (XP_002912774), gibón (XP_003275874), cobaya (XP_003465238), hurón (AER98997), vaca (NP_001193227), cerdo (NP_001167527), perro (XP_541938) y ornitorrinco (Ornithorhynchus anatinus; AFV61279). La forma madura de GDF15 humano tiene aproximadamente un 67 % de identidad de aminoácido con respecto al ortólogo de ratón.

Por conveniencia, las moléculas de GDF15 humano modificado, las variantes de GDF15 (por ejemplo, muteínas) y las muteínas GDF15 modificadas descritas a continuación se denominan colectivamente en lo sucesivo como el "Polipéptido(s)". Cabe señalar que cualquier referencia a "humano" en relación con los polipéptidos y las moléculas de ácido nucleico de la presente descripción no pretende ser limitante con respecto a la forma en que se obtiene el polipéptido o ácido nucleico o la fuente, sino más bien es solo con referencia a la secuencia, ya que puede corresponder a una secuencia de un polipéptido humano de origen natural o una molécula de ácido nucleico. En realizaciones particulares, las moléculas GDF15 humanas modificadas son dímeros N-glicosilados. Además de los

polipéptidos humanos y las moléculas de ácido nucleico que los codifican, la presente descripción contempla polipéptidos relacionados con GDF15 y las correspondientes moléculas de ácido nucleico de otras especies.

A. Polipéptidos que tienen propiedades físicas deseadas

- 5 La presente descripción contempla, en parte, polipéptidos que incluyen una secuencia de aminoácidos contigua que es al menos en un 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 (GDF15 humano de 112 aminoácidos de longitud maduros). Los polipéptidos pueden incluir una o más sustituciones de aminoácidos y/o eliminaciones con respecto a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1.
- 10 En ciertos casos, además de las sustituciones de aminoácidos, los polipéptidos de la presente descripción también pueden incluir eliminaciones de aminoácidos con respecto a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1. En algunos casos, los polipéptidos de la presente descripción pueden incluir eliminaciones de aminoácidos con respecto a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1.
- 15 Por conveniencia y claridad, la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 se utiliza como secuencia de referencia para los polipéptidos presentados en esta invención. Por lo tanto, las posiciones de residuos de aminoácidos se numeran en esta invención con referencia a la SEQ ID NO: 1. La secuencia de SEQ ID NO: 1 se presenta a continuación:

ARNGDHCPLGPGRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQ

FRAANMHAQIKTSLHRLKPDTPAPCCVPASYNPMVLIQKTDGTGVSLQTYDDLLAKDC

20 HCI

- En algunos casos, los polipéptidos de la presente descripción pueden incluir una, dos, tres o más sustituciones, adiciones o eliminaciones de aminoácidos que introducen uno o más sitios de consenso de glicosilación de enlace-N en una ubicación donde tal sitio no está presente en la SEQ ID NO: 1. El sitio de consenso de glicosilación de enlace-N incluye la secuencia NXS/T, donde N es Asn; X es un aminoácido distinto de la prolina; seguido de Ser (S) o Thr (T).
- 25

- Los ejemplos de polipéptidos de la presente descripción incluyen polipéptidos que tienen uno, dos, tres, cuatro o más sitios de consenso de glicosilación (por ejemplo, sitios de consenso de glicosilación de enlace-N) en una ubicación de aminoácidos donde tal sitio no está presente en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1.
- 30

- En ciertos casos, el polipéptido puede incluir una sustitución de aminoácidos con respecto a SEQ ID NO: 1 que proporciona un sitio de consenso de glicosilación de enlace-N en la posición de la sustitución (por ejemplo, una secuencia NGD en SEQ ID NO: 1 puede cambiarse a NGT/S por una sustitución; posición de la sustitución subrayada).
- 35 En otros casos, el polipéptido puede incluir dos sustituciones de aminoácidos en relación con la SEQ ID NO: 1 que proporcionan un sitio de consenso de glicosilación de enlace-N en la posición de las sustituciones (por ejemplo, una secuencia KTD en SEQ ID NO: 1 puede cambiarse a NTT/S mediante dos sustituciones; posiciones de sustituciones subrayadas). En algunas realizaciones, el polipéptido puede incluir tres sustituciones de aminoácidos con respecto a la SEQ ID NO: 1 que proporcionan un sitio de consenso de glicosilación de enlace-N en la posición de la sustitución (por ejemplo, una secuencia GPG en SEQ ID NO: 1 puede cambiarse a NTT/S mediante tres sustituciones; posición de sustituciones subrayada).
- 40

- En ciertos casos, el polipéptido puede incluir una o más eliminaciones de aminoácidos con respecto a la SEQ ID NO: 1 que proporciona un sitio de consenso de glicosilación de enlace-N en la posición de la eliminación. Por ejemplo, una secuencia NGDHCPLGPGRCCRLHT (SEQ ID NO: 119) en la SEQ ID NO: 1 puede cambiarse mediante la eliminación de los aminoácidos D a H (subrayado), proporcionando así un sitio de consenso de glicosilación de enlace-N: NGT.
- 45

- En ciertos casos, el polipéptido puede incluir una o más adiciones de aminoácidos en relación con la SEQ ID NO: 1 que proporciona un sitio de consenso de glicosilación de enlace-N en la(s) posición(es) de la(s) adición(es). Un ejemplo de introducción de un sitio de consenso de glicosilación de enlace-N mediante la adición de un aminoácido incluye añadir una N a una secuencia LHT en la SEQ ID NO: 1, generando así la secuencia LNHT, donde NHT es un sitio de consenso de glicosilación de enlace-N.
- 50

- Como se señaló anteriormente, el polipéptido puede incluir una o más sustituciones en relación con la SEQ ID NO: 1 y las sustituciones pueden numerarse como la posición del aminoácido correspondiente en la SEQ ID NO: 1.
- 55

En ciertos casos, el polipéptido puede incluir una secuencia de aminoácidos contigua que sea al menos en un 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1, donde la secuencia de aminoácidos contigua tiene la sustitución D5T/S o R21N.

En ciertos casos, el polipéptido puede incluir una secuencia de aminoácidos contigua que sea al menos en un 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1, donde la secuencia de aminoácidos contigua tiene al menos uno de los siguientes pares de sustituciones con respecto a los 5 aminoácidos correspondientes en SEQ ID NO: 1:

- i. R16N y H18T o R16N y H18S;
- ii. S23N y E25T o S23N y E25S;
- iii. L24N y D26T o L24N y D26S;
- 10 iv. S50N y F52T o S50N y F52S;
- v. F52N y A54T o F52N y A54S;
- vi. Q51N y R53T o Q51N y R53S;
- vii. R53N y A55T o R53N y A55S;
- viii. S64N y H66T o S64N y H66S;
- 15 ix. L65N y R67T o L65N y R67S;
- x. S82N y N84T o S82N y N84S;
- xi. K91N y D93T o K91N y D93S;
- xii. D93N y G95T o D93N y G95S;
- xiii. T94N y V96T o T94N y V96S;
- 20 xiv. V96N y L98T o V96N y L98S;
- xv. S97N y Q99T o S97N y Q99S; y
- xvi. A106N y D108T o A106N y D108S

Por ejemplo, las sustituciones en i) anteriores, indican que el polipéptido tiene una treonina (T) o serina (S) en una 25 posición de aminoácidos que corresponde a la posición de aminoácidos 18 en la SEQ ID NO: 1, donde en la SEQ ID NO: 1 a histidina (H) está presente en la posición de aminoácidos 18. Del mismo modo, una sustitución de una D en la posición 5 con una T o S puede ser indicada por D5T/S. La posición del aminoácido correspondiente en un polipéptido con respecto a la SEQ ID NO: 1 puede determinarse alineando las secuencias de aminoácidos.

30 En ciertos casos, el polipéptido puede incluir dos sustituciones de aminoácidos (un par de sustituciones) que proporcionan una única secuencia de consenso de N-glicosilación en una posición donde una secuencia de consenso de N-glicosilación no está presente en la SEQ ID NO: 1. Los ejemplos de tales sustituciones incluyen R16N y H18T/S; K91N y D93T/S; T94N y V96T/S; y otros enumerados anteriormente. R16N y H18T/S indica que el polipéptido tiene una N en una posición que corresponde a la posición 16 de la SEQ ID NO: 1, donde en la SEQ ID NO: 1 una R está 35 presente y el polipéptido tiene una T o S en una posición que corresponde a la posición 18 en la SEQ ID NO: 1, donde H está presente. Dado que la secuencia RXH (en la posición 16-18) en la SEQ ID NO: 1 no incluye ningún residuo para la secuencia de consenso de glicosilación de enlace-N, el par de sustituciones conduce a la introducción de la secuencia de consenso de glicosilación de enlace-N.

40 En casos alternativos, una sola sustitución de aminoácido puede ser suficiente para proporcionar la secuencia de consenso de glicosilación de enlace-N, por ejemplo, ya que la secuencia NGD (en la posición 3-5) está presente en la SEQ ID NO: 1, una sola sustitución de D con T o S produce la secuencia NGT o NGS, respectivamente, que son ambas secuencias de consenso de N-glicosilación.

45 En ciertos casos, se puede introducir más de una secuencia de consenso de N-glicosilación en el GDF15 de tipo salvaje. Por ejemplo, la secuencia de aminoácidos GDF15 de tipo salvaje puede modificarse mediante sustituciones y/o eliminaciones para proporcionar una, dos, tres, cuatro o más secuencias de consenso de N-glicosilación. En ciertos casos, el polipéptido puede incluir 112 aminoácidos contiguos que tienen una identidad de secuencia de al menos el 90 % con respecto a la secuencia de 112 aminoácidos de la SEQ ID NO: 1, donde los 112 aminoácidos contiguos 50 incluyen una, dos, tres, cuatro o más secuencias de consenso de N-glicosilación, tales como, 1-12, 1-10, 1-8, 1-6, 1-4, 1-3, o 1-2 secuencias de consenso de N-glicosilación.

En ciertos casos, el polipéptido puede incluir 112 aminoácidos contiguos que tienen una identidad de secuencia de al menos el 90 % con respecto a la secuencia de 112 aminoácidos de la SEQ ID NO: 1, donde los 112 aminoácidos 55 contiguos incluyen uno, dos, tres, cuatro o más de los pares de sustituciones establecidos en esta invención.

La presente descripción contempla también polipéptidos que son fragmentos activos (por ejemplo, subsecuencias) de los polipéptidos descritos anteriormente. La longitud de fragmentos activos o subsecuencias pueden ser de 40 aminoácidos a 111 aminoácidos, por ejemplo, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 98, 106, 109 o hasta 111 60 aminoácidos.

Los polipéptidos tienen una identidad de secuencia definida en comparación con una secuencia de referencia sobre

- una longitud definida de aminoácidos contiguos (por ejemplo, una "ventana de comparación"). Los procedimientos de alineación de secuencias para comparación son bien conocidos en la técnica. El alineamiento óptimo de secuencias para la comparación puede realizarse, por ejemplo, mediante el algoritmo de homología local de Smith y Waterman, Adv. Appl. Math. 2:482 (1981), mediante el algoritmo de alineamiento por homología de Needleman & Wunsch, J. Mol. Biol. 48:443 (1970), mediante la búsqueda del procedimiento de similitud de Pearson & Lipman, Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA 85:2444 (1988), mediante implementaciones computarizadas de estos algoritmos (GAP, BESTFIT, FASTA y TFASTA en el Wisconsin Genetics Software Package, Madison, Wis.), o mediante alineación manual e inspección visual (véase, por ejemplo, Protocolos actuales en biología molecular (Ausubel y col., eds. suplemento 1995)).
- 10 Como ejemplo, un polipéptido adecuado puede comprender una secuencia de aminoácidos que tiene al menos aproximadamente el 75 %, al menos aproximadamente el 80 %, al menos aproximadamente el 85 %, al menos aproximadamente el 90 %, al menos aproximadamente el 95 %, al menos aproximadamente el 98 %, o al menos aproximadamente el 99 %, identidad de secuencia de aminoácidos con un tramo contiguo de 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85 o hasta 112 aminoácidos en la SEQ ID NO: 1.
- 15 Fragmentos ejemplares de los polipéptidos descritos en esta invención incluyen polipéptidos que tienen eliminaciones de aminoácidos con respecto a la SEQ ID NO: 1. Por ejemplo, los polipéptidos pueden tener truncamientos de N-terminal y/o truncamientos de C-terminal relativos a la SEQ ID NO: 1. Los truncamientos pueden ser de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 o más aminoácidos con respecto a un polipéptido de referencia, por ejemplo, la SEQ ID NO: 1. En algunos casos, un polipéptido de interés puede incluir una o más sustituciones que introducen una secuencia de consenso de glicosilación de enlace-N, tales como la descrita en esta invención, y truncamientos de N-terminal y/o truncamientos de C-terminal relativos a la SEQ ID NO: 1.
- 20 En ciertos casos, el polipéptido puede tener al menos 98 aminoácidos de longitud y tener una identidad de secuencia de aminoácido de al menos el 90 %, 92 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o 100 % a un tramo correspondiente de 98 aminoácidos en la SEQ ID NO: 1. Este polipéptido puede carecer de los dos primeros a los catorce primeros aminoácidos (por ejemplo, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, o 14 aminoácidos) presentes en el extremo N de la SEQ ID NO: 1, al tiempo que conserva los aminoácidos presentes en el extremo C de la SEQ ID NO: 1. En otras palabras, el(los) aminoácido(s) eliminado(s) corresponden a los aminoácidos de N-terminal de la SEQ ID NO: 1.
- 30 En ciertos casos, la muteína GDF15 puede tener al menos 106 aminoácidos de longitud y tener una identidad de secuencia de aminoácido de al menos el 90 %, 92 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o 100 % a un tramo correspondiente de 106 aminoácidos en la SEQ ID NO: 1. La muteína GDF15 puede carecer de los seis primeros aminoácidos presentes en el extremo N de la SEQ ID NO: 1.
- 35 En ciertos casos, el polipéptido puede tener al menos 109 aminoácidos de longitud y tener una identidad de secuencia de aminoácidos de al menos el 90 %, 92 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % a un tramo correspondiente de 109 aminoácidos en la SEQ ID NO: 1. La muteína GDF15 puede carecer de los primeros tres aminoácidos presentes en el extremo N de la SEQ ID NO: 1.
- 40 Polipéptidos ejemplares de la presente descripción pueden incluir una eliminación de los dos aminoácidos del extremo N (Δ N2) con respecto al WT hGDF15 y pueden fusionarse a una secuencia de Fc en el extremo N. Sin embargo, cuando se refiere a la posición de las sustituciones de aminoácidos, el número de residuo indicado es el que corresponde a la posición en el WT hGDF15 maduro (WT; SEQ ID NO: 1). Por lo tanto, el aminoácido N en el extremo
- 45 N de un polipéptido que pierde los dos primeros aminoácidos en el extremo N puede ser denominado como residuo 3 aunque es el primer aminoácido en la secuencia de aminoácidos de polipéptido de muteína GDF15 y precedido por secuencias de aminoácidos heterólogos (por ejemplo, Fc).
- Como se señaló anteriormente, estos fragmentos de polipéptidos pueden incluir una o más sustituciones de aminoácidos que introducen una secuencia de consenso de N-glicosilación en relación con la secuencia de la SEQ ID NO: 1, tal como una, dos o más de las sustituciones de aminoácidos descritas en esta invención.
- Como se indicó anteriormente y como se describe con más detalle a continuación, los polipéptidos de la presente descripción pueden modificarse mediante, por ejemplo, pegilación (unión covalente de una o más moléculas de polietilenglicol (PEG), o derivados de las mismas); glicosilación (por ejemplo, N-glicosilación); polisialilación; moléculas de fusión de albúmina que comprenden albúmina de suero (por ejemplo, albúmina de suero humano (HSA), albúmina de suero de cino o albúmina de suero bovino (BSA)); albúmina que se une a través de, por ejemplo, una cadena de ácido graso conjugado (acilación); Fc-fusión; y fusión con un mimético de PEG. En ciertos casos, las modificaciones se introducen de una manera específica del sitio. En otros casos, las modificaciones incluyen un enlazador. El
- 60 enlazador puede conjugar la porción modificadora al polipéptido.

En casos particulares, la presente descripción contempla la modificación de muteínas GDF15 y GDF15 humanas

maduras (tales como los polipéptidos descritos anteriormente) mediante conjugación con albúmina. En otros casos, la presente descripción contempla la modificación de los polipéptidos mediante N-glicosilación u O-glicosilación. Las características de las albúminas y los conjugados de polipéptido de las mismas (por ejemplo, proteínas de fusión) y los polipéptidos glicosilados se describen adicionalmente más adelante.

5

Polipéptidos de fusión de Fc-GDF15 y complejos de los mismos

- En casos ejemplares, los polipéptidos GDF15 descritos en esta invención pueden estar presentes como un polipéptido de fusión que comprende un polipéptido de Fc o fragmento del mismo fusionado a la secuencia de aminoácidos de uno o más de los polipéptidos descritos en esta invención (por ejemplo, moléculas GDF15 humanas, moléculas GDF15 humanas modificadas, muteínas GDF15 y muteínas GDF15 modificadas). Según se proporciona en esta invención, el polipéptido GDF15 puede ser un polipéptido de tipo salvaje o una muteína, por ejemplo, una muteína de glicosilación. Como se usa en esta invención, una "muteína de glicosilación" o "glicomuteína" o "variante de glicosilación" o "glicovariante" en el contexto de un polipéptido, por ejemplo, un polipéptido GDF15 se refiere a un polipéptido que incluye uno o más sitios de consenso de glicosilación en una posición en la secuencia de aminoácido en cuya posición el polipéptido de (tipo salvaje) de referencia no incluye el sitio de consenso de glicosilación. En ciertos casos, el polipéptido de fusión puede incluir una secuencia de Fc fusionada al extremo N de una glicomuteína GDF15 descrita en esta invención.
- Cualquier secuencia de polipéptido Fc descrita en esta invención o conocida en la técnica puede ser un componente de las proteínas de fusión de la presente descripción. Los componentes de las proteínas de fusión pueden unirse opcionalmente de forma covalente a través de un enlazador, tal como aquellos enlazadores descritos en esta invención. En algunos de los aspectos de la presente descripción, las proteínas de fusión comprenden la secuencia del polipéptido Fc como una porción del N-terminal y los polipéptidos descritos en esta invención como una porción del C-terminal.

En ciertos casos, el socio de Fc de los polipéptidos de fusión de Fc-GDF15 descritos en esta invención puede ser un Fc que tiene la secuencia de Fc de IgG humana (por ejemplo, IgG1, IgG2, IgG3, o IgG4) o una variante de la misma. La secuencia de aminoácidos de Fc de IgG1 humana se proporciona como la SEQ ID NO: 2:

30

EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH
DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN
KALPAIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG
QPENNYKTTTPVLDSGSEFLYSKLTVDKSRWQOGNVEFSCSVMHEALHNHYTQKSLSL
SPGK (SEQ ID NO: 2)

- La región bisagra está en cursiva, el dominio CH2 está subrayado y el dominio CH3 está doblemente subrayado. La numeración de la posición del aminoácido en la secuencia de Fc es según la numeración de la UE (Edelman, GM y col., Proc. Natl. Acad. EE.UU., 63, 78-85 (1969)). Por lo tanto, el residuo ácido glutámico "E" en la posición 1 en la SEQ ID NO: 2 se numera como 216; el dominio CH2 comienza con alanina (A) que se numera como 231; el dominio CH3 comienza en glicina (G) que se numera como 341, según la numeración de la UE.

- El socio de FC de los polipéptidos de fusión de Fc-GDF15 descrito en esta invención puede ser un Fc que tiene una secuencia de aminoácidos contigua que es al menos en un 90 % idéntica a la SEQ ID NO: 2, por ejemplo, al menos en un 93 %, al menos en un 95 %, al menos en un 97 %, al menos en un 98 %, o más idéntica a la SEQ ID NO: 2. En ciertos casos, el socio de Fc puede ser un fragmento de Fc que comprende un dominio CH3 o una secuencia de aminoácidos contigua que es al menos en un 90 %, 92 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o 100 % idéntica al dominio CH3 en la SEQ ID NO: 2. En ciertos casos, el socio de Fc puede ser un fragmento de Fc que comprende un dominio CH2 y un dominio CH3 o una secuencia de aminoácidos contigua que es al menos en un 90 %, 92 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o 100 % idéntica a los dominios CH2 y CH3 en la SEQ ID NO: 2. En ciertos casos, el socio de Fc puede ser un fragmento de Fc que comprende una región de bisagra parcial, un dominio CH2 y un dominio CH3 o una secuencia de aminoácidos contigua que es al menos en un 90 %, 92 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o 100 % idéntica a la región de bisagra, un dominio CH2 y un dominio CH3 en la SEQ ID NO: 2. En ciertos casos, el socio de Fc puede tener una secuencia de aminoácidos al menos en un 90 %, 92 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o 100 % idéntica al conjunto de secuencia de aminoácidos expuesto en la SEQ ID NO: 2.

- En ciertos casos, el socio de Fc de los polipéptidos de fusión Fc-GDF15 puede incluir una protuberancia diseñada cuya protuberancia puede asociar otro polipéptido Fc que incluye una cavidad diseñada. En otros casos, el socio de Fc de los polipéptidos de fusión Fc-GDF15 puede incluir una cavidad diseñada que puede asociar otro polipéptido Fc

que incluye una protuberancia diseñada. Las secuencias de Fc ejemplares con protuberancia diseñada y/o la cavidad se describen en el documento US 8.216.805 . En ciertos casos, la protuberancia y la cavidad se pueden diseñar en el dominio CH3 del polipéptido Fc. En ciertos casos, el socio de Fc que se asocia con los polipéptidos de fusión Fc-GDF15 de la presente descripción, no está conjugado con un polipéptido GDF15. En consecuencia, el socio de Fc se dimeriza con el polipéptido de fusión Fc-GDF15 que forma un heterodímero, con una molécula GDF15 por heterodímero.

Las "protuberancias" o "botones" pueden diseñarse mediante la sustitución de cadenas laterales de aminoácidos pequeños en un dominio CH3 de un primer polipéptido con cadenas laterales más grandes (por ejemplo, tirosina o triptófano). Se crean opcionalmente "cavidades" u "orificios" compensatorios de tamaño idéntico o similar a las protuberancias en el dominio CH3 de un segundo polipéptido reemplazando las cadenas laterales grandes de aminoácidos con unas más pequeñas (por ejemplo, alanina o treonina).

El "primer polipéptido" puede ser cualquier polipéptido que se va a estar asociado con un segundo polipéptido. El primer y segundo polipéptido se encuentran en una "interfaz" (definida más abajo). Además de la interfaz, el primer polipéptido puede comprender uno o más dominios adicionales, tales como un dominio CH2 o una región bisagra. En ciertos casos, el primer polipéptido comprende un dominio CH3 que puede formar la interfaz del primer polipéptido.

El "segundo polipéptido" puede ser cualquier polipéptido que se asocie con el primer polipéptido a través de una "interfaz". Además de la interfaz, el segundo polipéptido puede comprender uno o más dominios adicionales, tales como un dominio CH2 o una región bisagra. En ciertos casos, el segundo polipéptido incluye un dominio CH3 que puede formar la interfaz del segundo polipéptido.

La "interfaz" comprende aquellos residuos de aminoácido "contacto" (u otros grupos de no-aminoácidos tales como grupos carbohidrato, NADH, biotina, FAD o de grupo hemo) en el primer polipéptido que interactúan con uno o más residuos de aminoácido "contacto" (u otros grupos de no-aminoácidos) en la interfaz del segundo polipéptido. En ciertos casos, la interfaz puede ser un dominio de una inmunoglobulina tal como un dominio constante (o fragmentos de los mismos). En ciertos casos, la interfaz comprende el dominio CH3 de una inmunoglobulina que se deriva de un anticuerpo IgG, por ejemplo, un anticuerpo IgG1, IgG2, IgG3, o IgG4 humano.

Una "protuberancia" se refiere a al menos a una cadena lateral de aminoácidos que se proyecta desde la interfaz del primer polipéptido y por lo tanto se puede colocar en una cavidad compensatoria en la interfaz adyacente (es decir, la interfaz del segundo polipéptido) con el fin de estabilizar el heterodímero, y de este modo favorecer la formación de heterodímero sobre la formación de homodímeros, por ejemplo. La cavidad puede existir en la interfaz original o puede introducirse sintéticamente (por ejemplo, alterando el ácido nucleico que codifica la interfaz). La protuberancia puede ser introducida sintéticamente (por ejemplo, mediante la alteración del ácido nucleico que codifica la interfaz), por ejemplo, por medios recombinantes.

Una "cavidad" se refiere al menos a una cadena lateral de aminoácidos que está encastrada a partir de la interfaz del segundo polipéptido y, por lo tanto, aloja una protuberancia correspondiente en la interfaz adyacente del primer polipéptido. La cavidad puede existir en la interfaz original o puede introducirse sintéticamente (por ejemplo, alterando el ácido nucleico que codifica la interfaz). Por ejemplo, el ácido nucleico que codifica la interfaz del segundo polipéptido se altera para codificar la cavidad.

Una protuberancia se conoce también como un "botón" y una cavidad se conoce también como un "ojal". Protuberancias y cavidades ejemplares se describen en el documento US8.216.805 e incluyen sustituciones en las siguientes posiciones de aminoácidos: 347, 366, 368, 394, 405, y 407. La numeración de la posición del aminoácido es según la numeración de la UE. La protuberancia diseñada puede incluir al menos una sustitución del aminoácido correspondiente en una secuencia IgG1 Fc humana, donde la sustitución está en una posición seleccionada del grupo que consiste en los residuos de aminoácidos 347, 366 y 394. Por ejemplo, la al menos una sustitución se selecciona del grupo que consiste en Q347W/Y, T366W/Y, y T394W/Y. En ciertos casos, la cavidad diseñada comprende al menos una sustitución del aminoácido correspondiente en una secuencia IgG1 Fc humana, donde la sustitución está en una posición seleccionada del grupo que consiste en los residuos de aminoácidos 366, 368, 394, 405 y 407. Por ejemplo, la al menos una sustitución se selecciona del grupo que consiste en T366S, L368A, T394S, F405T/V/A, y Y407T/V/A.

En ciertos casos, la protuberancia puede incluir la sustitución T366W/Y y la cavidad puede incluir las sustituciones T366S, L368A e Y407T/V/A.

Por ejemplo, la protuberancia puede incluir la sustitución T366W/Y y la cavidad puede incluir la sustitución Y407T/V/A. En otros casos, la protuberancia puede incluir la sustitución T366Y y la cavidad puede incluir la sustitución Y407T. En otros ejemplos, la protuberancia puede incluir la sustitución T366W y la cavidad puede incluir la sustitución Y407A. En

otros ejemplos, la protuberancia puede incluir la sustitución T394Y y la cavidad puede incluir la sustitución Y407T.

En ciertos casos, el socio Fc del polipéptido GDF15 en el polipéptido de fusión puede incluir mutaciones adicionales que mejoran una propiedad del polipéptido de fusión. Como tal, las secuencias de Fc en el primer y el segundo polipéptidos descritos en esta invención, pueden incluir mutaciones adicionales. Por ejemplo, la secuencia de socio Fc puede incluir una mutación(es) que aboga (por ejemplo, disminuye o elimina) la función efectora de IgG que de otro modo puede ser una característica del socio Fc. En ciertos casos, la secuencia de socio Fc puede incluir la mutación(es) que abogan las funciones efectoras tales como citotoxicidad dependiente del complemento (CDC), citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC) y fagocitosis celular dependiente de anticuerpos (ADCP).

Los cuatro isotipos de IgG humana unen los receptores Fcγ de activación (FcγRI, FcγRIIa, FcγRIIIa), el receptor FcγRIIb inhibitor, y el primer componente del complemento (C1q) con diferentes afinidades, proporcionando unas funciones efectoras muy diferentes. Por lo tanto, las mutaciones dentro de las regiones de unión pueden tener un impacto significativo sobre la función efectora.

La unión de IgG a los FcγRs o C1q depende de los residuos localizados en la región bisagra y el dominio CH2. Dos regiones del dominio CH2 son críticas para la unión de FcγRs y C1q, y tienen secuencias únicas en IgG2 y IgG4. Sustituciones en IgG1 humana de los residuos de IgG2 en las posiciones 233-236 y los residuos de IgG4 en las posiciones 327, 330 y 331, se mostró para reducir en gran medida la actividad de ADCC y CDC (Armour KL. y col., 1999. Eur J Immunol. 29(8):2613-24; Shields RL y col., 2001, J Biol Chem. 276(9):6591-604). Además, Idusogie y col. demostraron que la sustitución de alanina en diferentes posiciones, incluyendo K322, redujo significativamente la activación del complemento (Idusogie EE. y col., 2000. J Immunol. 164(8):4178-84). Del mismo modo, se demostró que las mutaciones en el dominio CH2 de IgG2A murino para reducir la unión a FcγRI, y C1q (Steurer W. y col., 1995. J Immunol. 155(3):1165- 74). En ciertas realizaciones, el polipéptido de Fc puede incluir una mutación en el dominio CH2 que aboga la(s) función(es) efectora(s) de IgG. Las mutaciones ejemplares en las regiones CH2 incluyen: APELLGGP (SEQ ID NO: 96) → APALLGGP (SEQ ID NO: 98); APELLGGP (SEQ ID NO: 96) → APELAGGP (SEQ ID NO: 99); y APELLGGP (SEQ ID NO: 96) → APALAGGP (SEQ ID NO: 97).

En algunos casos, un polipéptido Fc conjugado con las glicomuteínas GDF15 comprende parte o la totalidad de una secuencia de bisagra de tipo salvaje (por lo general en su extremo N). En algunos casos, un polipéptido Fc no comprende una secuencia de tipo bisagra funcional o salvaje. En ciertos casos, la secuencia de Fc puede incluir una de las siguientes secuencias de bisagra: EPKSCDKTHTCPPCP (SEQ ID NO: 100); KSCDKTHTCPPCP (SEQ ID NO: 101); SCDKTHTCPPCP (SEQ ID NO: 102); CDKTHTCPPCP (SEQ ID NO: 103); DKTHTCPPCP (SEQ ID NO: 104); KTHTCPPCP (SEQ ID NO: 105); THTCPPCP (SEQ ID NO: 106); o CPPCP (SEQ ID NO: 107); o una variante de las mismas que tiene una o más sustituciones (por ejemplo, 1-6 sustituciones, por ejemplo, 1-5, 1-4, 1, 2, 3, 4, 5, o 6 sustituciones). En ciertos casos, la secuencia de Fc puede incluir región bisagra que forma un enlace covalente (por ejemplo, uno o más enlaces disulfuro) con la región bisagra de otro Fc. Por lo tanto, en ciertos casos, el primer y segundo polipéptidos en los complejos descritos en esta invención pueden estar asociados a través de una interacción covalente entre las regiones bisagra de los primer y segundo polipéptidos. La interacción covalente puede incluir uno o dos enlaces disulfuro intermoleculares.

Como se describe en detalle en esta invención, se contempla un primer polipéptido que comprende una secuencia de botón u ojal Fc conjugada con una glicomuteína GDF15. Tal polipéptido puede estar en un complejo con un segundo polipéptido Fc con el que el primer polipéptido puede estar asociado físicamente a través de la colocación del botón en el ojal de la secuencia de Fc.

En ciertos casos, se describe un complejo de un primer polipéptido Fc y un segundo polipéptido Fc. Uno de los primero o segundo polipéptidos puede ser un polipéptido de fusión de Fc y GDF15. Como se ha señalado en esta invención, el polipéptido GDF15 puede incluir una mutación(es) de glicosilación que conduce a la glicosilación del polipéptido GDF15. Un polipéptido GDF15 glicosilado puede ser denominado también como un glicano de GDF15 o una glicomuteína de GDF15. El glicano de GDF15 o la glicomuteína de GDF15 puede ser como se describe en esta invención. En ciertos casos, el glicano de GDF15 o la glicomuteína de GDF15 fusionada al polipéptido de Fc-botón o Fc-oyal proporcionado en esta invención puede ser un polipéptido que incluye una secuencia de aminoácidos contigua que es al menos en un 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o 100 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1, donde la secuencia de aminoácidos contigua tiene la sustitución D5T; D5S; o R21N relativa a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1. En ciertos casos, el glicano de GDF15 o la glicomuteína de GDF15 fusionada al polipéptido de Fc-botón o Fc-oyal puede ser un polipéptido que tiene una secuencia de aminoácidos que es al menos en un 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o 100 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1, donde la secuencia de aminoácidos incluye uno o más de los siguientes pares de sustituciones en relación con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1:

xvii. R16N y H18T o R16N y H18S

- xviii. S23N y E25T o S23N y E25S;
- xix. S50N y F52T o S50N y F52S;
- xx. F52N y A54T o F52N y A54S;
- xxi. R53N y A55T o R53N y A55S;
- 5 xxii. S64N y H66T o S64N y H66S;
- xxiii. K91N y D93T o K91N y D93S;
- xxiv. D93N y G95T o D93N y G95S;
- xxv. T94N y V96T o T94N y V96S;
- xxvi. V96N y L98T o V96N y L98S;
- 10 xxvii. S97N y Q99T o S97N y Q99S; y
- xxviii. A106N y D108T o A106N y D108S

En ciertos casos, el complejo puede incluir un primer y un segundo polipéptido. El primer polipéptido puede incluir una secuencia IgG Fc, la secuencia IgG Fc puede incluir una secuencia CH3 que incluye al menos una protuberancia diseñada; y un segundo polipéptido que comprende una secuencia de IgG Fc, comprendiendo la secuencia de IgG Fc una secuencia CH3 que comprende al menos una cavidad diseñada, donde el primer polipéptido se dimeriza con el segundo polipéptido mediante la colocación de la protuberancia del primer polipéptido en la cavidad del segundo polipéptido, y donde el extremo C del primer polipéptido o el extremo C del segundo polipéptido se conjuga con el extremo N de una muteína GDF15 que comprende al menos un sitio de consenso de glicosilación de enlace-N. En consecuencia, el complejo comprende un heterodímero del primer polipéptido y el segundo polipéptido. Dado que el primer o el segundo polipéptido está fusionado con las muteínas GDF15 descritas en esta invención, una molécula GDF15 está presente por heterodímero. En ciertos casos, la muteína GDF15 puede ser una muteína GDF15 descrita en esta invención.

25 Como se trata en esta invención, el primer y segundo polipéptidos pueden interactuar para formar un heterodímero a través de interacciones covalentes y/o no-covalentes, tales como, de interacción hidrófoba, enlaces disulfuro, o ambos.

En ciertos casos, se describe un complejo que comprende un primer heterodímero y un segundo heterodímero. Cada uno de los primeros heterodímeros y segundos heterodímeros puede incluir un primer polipéptido y un segundo polipéptido, donde el primer polipéptido puede incluir una secuencia IgG Fc, la secuencia IgG Fc puede incluir una secuencia CH3 que comprende al menos una protuberancia diseñada; el segundo polipéptido puede incluir una secuencia IgG Fc, la secuencia IgG Fc puede incluir una secuencia CH3 que comprende al menos una cavidad diseñada; donde el primer polipéptido se dimeriza con el segundo polipéptido mediante la colocación de la protuberancia del primer polipéptido en la cavidad del segundo polipéptido, donde el extremo C el primer polipéptido o el extremo C el segundo polipéptido se conjuga con el N-terminal de una muteína GDF15 que comprende al menos un sitio de consenso de glicosilación de enlace-N, donde la muteína GDF15 en el primer heterodímero se dimeriza con la muteína GDF15 en el segundo heterodímero formando así el complejo que comprende el primer heterodímero y el segundo heterodímero. En un complejo de la presente descripción cuyo complejo incluye el primer heterodímero asociado físicamente con un segundo heterodímero, dos moléculas de GDF15 están presentes por complejo heterodímero-heterodímero.

Como se ha señalado en esta invención, el primer y segundo polipéptidos pueden interactuar para formar un heterodímero a través de interacciones covalentes y/o no-covalentes, tales como, de interacción hidrófoba, enlaces disulfuro, o ambos, y los primer y segundo dímeros de heterodímeros pueden interactuar para formar un complejo dímero-dímero por interacciones covalentes y/o no-covalentes, tales como, interacción hidrófoba, enlaces disulfuro, o ambos.

En ciertos casos, las muteínas GDF15 presentes en cada uno de los heterodímeros descritos en esta invención, por ejemplo, en un complejo de dos heterodímeros, pueden ser idénticas en secuencia o diferentes. En ciertos casos, la muteína GDF15 en un complejo de dos heterodímeros, puede ser idéntica en secuencia.

Las secuencias de Fc ejemplares para su fusión con muteínas GDF15 y como socios de unión a proteínas de fusión Fc-GDF15 se describen en esta invención. En ciertos casos, las secuencias de Fc presentes en los complejos de la presente descripción pueden ser similares o idénticas en la secuencia distinta de la secuencia de "botón" y "ojal" diseñada.

En ciertos casos, el primer y segundo polipéptidos que pueden interactuar para formar los complejos descritos en esta invención pueden ser como se establece a continuación como Par I a VIII. En las secuencias que figuran a continuación, la secuencia de Fc de inmunoglobulinaG1 humana (hIgG1) es seguida de una secuencia de enlazador (subrayada), seguida de la secuencia de muteína GDF15 (en negrita).

PAR I:

Primer polipéptido: hlgG1-Fc(AA)(T366W)-(G4S)₂-ΔN2-GDF15 (N3-I112) (D5T)

DKTHTCPPCPAPALAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP
APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
5 NNYKTTTPVLDSGSSFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
KGGGGSGGGGSGNGTHCPLGPGRCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCI
GACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTPAPCCVPASYNPMVLIQKTDGTGVSQTQY
DDLAKDCHCI (SEQ ID NO: 3)

Segundo polipéptido: hlgG1-Fc(AA)(T366S)(L368A)(Y407V)

DKTHTCPPCPAPALAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP
APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN
10 NYKTTTPVLDSGSSFLVSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
(SEQ ID NO: 4)

PAR II:

Primer polipéptido: hlgG1-Fc(AA)(T366W)-(G4S)₅-ΔN2-GDF15 (N3-I112) (D5T)

15 DKTHTCPPCPAPALAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP
APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
NNYKTTTPVLDSGSSFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
KGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGNGTHCPLGPGRCRLHTVRASLEDLGWAD
WVLSPREVQVTMCI GACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTPAPCCVPASYNPM
VLIQKTDGTGVSQTQYDDLAKDCHCI (SEQ ID NO: 5)

Segundo polipéptido: hlgG1-Fc(AA)(T366S)(L368A)(Y407V)

DKTHTCPPCPAPALAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP
APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN
20 NYKTTTPVLDSGSSFLVSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
(SEQ ID NO: 6)

PAR III:

Primer polipéptido: hlgG1-Fc(AA)(T366W)-(G4S)₅-ΔN3-GDF15 (G4-I112)(R21N)

25

DKTHTCPPCPAPALAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP
APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
NNYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
KGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGDHCPLGPGRCRLHTVNASLEDLGWAD
WVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTPAPCCVPASYNPM
VLIQKTDGTGVSQTYYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO: 7)

Segundo polipéptido: hlgG1-Fc(AA)(T366S)(L368A)(Y407V)

DKTHTCPPCPAPALAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP
APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
NYKTTTPVLDSGDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
(SEQ ID NO: 8)

PAR IV:

Primer polipéptido: hlgG1-Fc(AA)(T366W)-(G4S)₅-ΔN3-GDF15 (G4-I112)(S23N/E25T)

DKTHTCPPCPAPALAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP
APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
NNYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
KGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGDHCPLGPGRCRLHTVRANLTDLGWAD
WVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTPAPCCVPASYNPM
VLIQKTDGTGVSQTYYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO: 9)

Segundo polipéptido: hlgG1-Fc(AA)(T366S)(L368A)(Y407V)

DKTHTCPPCPAPALAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP
APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
NYKTTTPVLDSGDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
(SEQ ID NO: 10)

PAR V:

Primer polipéptido: hlgG1-Fc(AA)(T366W)-(G4S)₅-ΔN3-GDF15 (G4-I112)(F52N/A54T)

DKTHTCPPCPAPALAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP
APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
NNYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
KGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGDHCPLGPGRCRLHTVRASLEDLGWAD
WVLSPREVQVTMCIGACPSQNRTANMHAQIKTSLHRLKPDTPAPCCVPASYNPM
VLIQKTDGTGVSQTYYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO: 11)

Segundo polipéptido: hlgG1-Fc(AA)(T366S)(L368A)(Y407V)

DKTHTCPPCPAPALAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP
APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
NYKTTTPVLDSGDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
(SEQ ID NO: 12)

PAR VI:

Primer polipéptido: hlgG1-Fc(AA)(T366W)-(G4S)₅-ΔN3-GDF15 (G4-I112)(R53N/A55T)

DKTHTCPPCPAPALAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP
APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
NNYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
KGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGDHCPLGPGRCRLHTVRASLEDLGWAD
WVLSPREVQVTMCIGACPSQFNATNMHAQIKTSLHRLKPDTPAPCCVPASYNPM
VLIQKTDGTGVSQTYYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO: 13)

Segundo polipéptido: hlgG1-Fc(AA)(T366S)(L368A)(Y407V)

DKTHTCPPCPAPALAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP
APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
NYKTTTPVLDSGDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
(SEQ ID NO: 14)

PAR VII:

Primer polipéptido: hlgG1-Fc(AA)(T366W)-(G4S)₅-ΔN3-GDF15 (G4-I112) (K91N/D93T)

DKTHTCPPCPAPALAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP
APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
NNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
KGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGDHCPLGPGRCRLHTVRASLEDLGWAD
WVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTPAPCCVPASYNPM
VLIQNTTTGVSLQTYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO: 15)

Segundo polipéptido: hlgG1-Fc(AA)(T366S)(L368A)(Y407V)

DKTHTCPPCPAPALAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP
APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
NYKTTTPVLDSGDSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
(SEQ ID NO: 16)

PAR VIII:

Primer polipéptido: hlgG1-Fc(AA)(T366W)- (G₄S)₅-ΔN3-GDF15 (G4-I112)(D93N/G95T)

DKTHTCPPCPAPALAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP
APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
NNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
KGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGDHCPLGPGRCRLHTVRASLEDLGWAD
WVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTPAPCCVPASYNPM
VLIQKTNTTVSLQTYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO: 17)

Segundo polipéptido: hlgG1-Fc(AA)(T366S)(L368A)(Y407V)

DKTHTCPPCPAPALAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP
APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
NYKTTTPVLDSGDSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
(SEQ ID NO: 18)

En ciertos casos, el primer y segundo polipéptidos que pueden interactuar para formar los complejos descritos en esta invención pueden tener una secuencia de aminoácidos al menos en un 80 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de los primer y segundo polipéptidos, respectivamente, como se describe más arriba en los Pares I a VIII. Por ejemplo, la identidad de secuencia puede ser al menos del 85 %, al menos del 90 %, al menos del 95 %, al menos del 97 %, al menos del 99 %, o más.

En ciertos casos, el complejo puede incluir un primer polipéptido que tiene una secuencia de aminoácidos al menos en un 90 %, 92 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o 100 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3; y un segundo polipéptido que tiene una secuencia de aminoácidos al menos en un 90 %, 92 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o 100 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4, donde el primer y segundo polipéptidos están enlazados covalentemente a través de al menos un enlace disulfuro intermolecular. También se

proporciona en esta invención un complejo que comprende un primer heterodímero y un segundo heterodímero, comprendiendo cada uno de los primer heterodímero y segundo heterodímero un primer polipéptido que tiene una secuencia de aminoácidos al menos en un 90 %, 92 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3; y un segundo polipéptido que tiene una secuencia de aminoácidos al menos en un 90 %, 92 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4.

En ciertos casos, el complejo puede incluir un primer polipéptido que tiene una secuencia de aminoácidos al menos en un 90 %, 92 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5; y un segundo polipéptido que tiene una secuencia de aminoácidos al menos en un 90 %, 92 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6, donde el primer y el segundo polipéptidos están enlazados covalentemente a través de al menos un enlace disulfuro intermolecular. También se proporciona en esta invención un complejo que comprende un primer heterodímero y un segundo heterodímero, comprendiendo cada uno de los primer heterodímero y segundo heterodímero un primer polipéptido que tiene una secuencia de aminoácidos al menos en un 90 %, 92 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5; y un segundo polipéptido que tiene una secuencia de aminoácidos al menos en un 90 %, 92 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6.

En ciertos casos, el complejo puede incluir un primer polipéptido que tiene una secuencia de aminoácidos al menos en un 90 %, 92 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 7; y un segundo polipéptido que tiene una secuencia de aminoácidos al menos en un 90 %, 92 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 8, donde el primer y el segundo polipéptidos están enlazados covalentemente a través de al menos un enlace disulfuro intermolecular. También se proporciona en esta invención un complejo que comprende un primer heterodímero y un segundo heterodímero, comprendiendo cada uno de los primer heterodímero y segundo heterodímero un primer polipéptido que tiene una secuencia de aminoácidos al menos en un 90 %, 92 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 7; y un segundo polipéptido que tiene una secuencia de aminoácidos al menos en un 90 %, 92 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 8.

En casos particulares, los complejos descritos en esta invención pueden incluir dos heterodímeros, comprendiendo cada heterodímero:

(a) un polipéptido hlgG1-Fc que comprende un botón (Fc-botón) y que tiene la secuencia:

DKTHTCPPCPAPALAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP
APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
NNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

2. K (SEQ ID NO: 127);

35 y

(b) un polipéptido hlgG1-Fc que comprende un ojal (Fc-oyal) y que tiene la secuencia:

DKTHTCPPCPAPALAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP
APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN
NYKTTTPVLDSGDSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

40 5. (SEQ ID NO: 4),

donde ya sea el Fc-botón (a) o el Fc-oyal (b) se fusiona en el extremo C al extremo N de una glicomuteína GDF15. La secuencia de la glicomuteína GDF15 puede ser como sigue:

ARNGTHCPLGPGRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQ
FRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCCVPASYNPMVLIQKTDTGVS LQTYDDLLAKDC
HCI (SEQ ID NO: 128; GDF15 (A1-I112) D5T);

o

NGTHCPLGPGRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFR
AANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCCVPASYNPMVLIQKTDTGVS LQTYDDLLAKDCHCI
(SEQ ID NO: 129; ΔN2-GDF15 (N3-I112) D5T);

5

o

GTHCPLGPGRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRA
ANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCCVPASYNPMVLIQKTDTGVS LQTYDDLLAKDCHCI
(SEQ ID NO: 130; ΔN3-GDF15 (G4-I112) D5T);

10

o

GDHCPLGPGRCCRLHTVNASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRA
ANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCCVPASYNPMVLIQKTDTGVS LQTYDDLLAKDCHCI
(SEQ ID NO: 131; ΔN3-GDF15 (G4-I112) R21N);

15 o

GDHCPLGPGRCCRLHTVRANLTDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRA
ANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCCVPASYNPMVLIQKTDTGVS LQTYDDLLAKDCHCI
(SEQ ID NO: 132; ΔN3-GDF15 (G4-I112) (S23N/E25T));

o

20

GDHCPLGPGRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQNRT
ANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCCVPASYNPMVLIQKTDTGVS LQTYDDLLAKDCHCI
(SEQ ID NO: 133; ΔN3-GDF15 (G4-I112)(F52N/A54T));

o

GDHCPLGPGRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFNA
TNMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCCVPASYNPMVLIQKTDTGVS LQTYDDLLAKDCHCI
(SEQ ID NO: 134; ΔN3-GDF15 (G4-I112)(R53N/A55T));

25

o

GDHCPLGPGRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRA
ANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCCVPASYNPMVLIQNTTTGVS LQTYDDLLAKDCHCI
(SEQ ID NO: 135; ΔN3-GDF15 (G4-I112) (K91N/D93T));

30

o

GDHCPLGPGRCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRA
 ANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCCVPASYNPMVLIQKTNNTTVSLQTYDDLAKDCHCI
 (SEQ ID NO: 136; Δ N3-GDF15 (G4-I112)(D93N/G95T)).

En ciertos ejemplos, la secuencia de aminoácidos del Fc-botón puede ser al menos en un 85 %, 90 %, 92 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o más idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 127. En ciertos ejemplos, la secuencia de aminoácidos del Fc-ojal puede ser al menos en un 85 %, 90 %, 92 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o más idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4. En ciertos ejemplos, la secuencia de aminoácidos de la muteína GDF15 puede ser al menos en un 85 %, 90 %, 92 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o más idéntica a la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEQ ID NOs: 128-136.

10 Los Fc-botón o Fc-ojal pueden estar unidos con la glicomuteína GDF15 a través de una secuencia de enlazador (G 4 S)_n, donde n=1-10, tal como, 2, 3, 4, o 5.

En ciertos ejemplos, los complejos de la presente descripción pueden tener una recuperación de al menos 50 mg/L, por ejemplo al menos más de 55 mg/L, 60 mg/L, 65 mg/L, 70 mg/L, 75 mg/L, 80 mg/L, 85 mg/L, 90 mg/L, 95 mg/L, 100 mg/L, 110 mg/L, 120 mg/L, 130 mg/L, 140 mg/L, 150 mg/L, 160 mg/L, 170 mg/L, 180 mg/L, 190 mg/L, 200 mg/L, o más. En ciertos casos, los complejos de la presente divulgación pueden tener una recuperación de al menos 50 mg/L-300 mg/L, tales como 60 mg/L-300 mg/L, 75 mg/L-300 mg/L, 75 mg/L-250 mg/L, 75 mg/L-200 mg/L, 75 mg/L-175 mg/L, 75 mg/L-150 mg/L, 100 mg/L-300 mg/L, 100 mg/L-250 mg/L, 100 mg/L-200 mg/L, 100 mg/L-150 mg/L, 100 mg/L-125 mg/L, 110 mg/L-300 mg/L, o 150 mg/L-300 mg/L. Recuperación del complejo se refiere a la cantidad de complejo dímero-dímero completamente ensamblado obtenido a partir de medios de cultivo en el que se cultiva una célula huésped que expresa el primer y segundo polipéptidos que forman los dos dímeros presentes en cada complejo completamente ensamblado.

La presente descripción contempla también socios de fusión de polipéptidos Fc, y proteínas de fusión que comprenden tales, donde el socio de fusión de polipéptidos Fc se modifica para ser un socio de un par Fc cargado. Un "socio de un par Fc cargado" se refiere a una (i) una secuencia de Fc "cargada negativamente" (opcionalmente sin la región bisagra) y que comprende una mutación de par cargado o (ii) una secuencia de Fc "cargada positivamente" (opcionalmente sin la región bisagra) y que comprende una mutación de par cargada. "Cargado positivamente" y "cargado negativamente" se utilizan en esta invención para facilitar la referencia para describir la naturaleza de las mutaciones de par cargado en las secuencias Fc, y no para indicar que la secuencia general o construcción necesariamente tiene una carga positiva o negativa. Las secuencias de aminoácidos de Fc cargadas adecuadas para su uso en construcciones de polipéptidos (por ejemplo, glicomuteína GDF15, glicomuteínas GDF15 modificadas) de la presente descripción se describen en, por ejemplo, el documento WO 2013/113008.

35 Los ejemplos de una Fc cargada positivamente ("Fc(+)") incluyen una Fc que comprende una mutación de ácido a lisina aspartática (E356K) y una mutación de ácido glutámico a lisina (D399K) de una secuencia de Fc que carece de la región bisagra. Los ejemplos de una Fc cargada negativamente ("Fc(-)") incluyen una Fc que comprende dos mutaciones de lisina a aspartato (K392D, K409D) en una secuencia de Fc que carece de la región bisagra. La lisina del C-terminal (K477) también se puede borrar opcionalmente. Cuando una proteína de fusión de polipéptidos Fc(+) (por ejemplo, la proteína de fusión de muteína Fc(+)GDF15) y una proteína de fusión de polipéptidos Fc(-) (por ejemplo, la proteína de fusión de muteína Fc(-)GDF15) se incuban juntos, los residuos de aspartato se asocian con los residuos de lisina a través de la fuerza electrostática, lo que facilita la formación de heterodímeros Fc entre las secuencias Fc(+) y Fc(-) de las proteínas de fusión de los polipéptidos GDF15.

45 La presente descripción contempla también construcciones designadas "hemi" o "hemiFc", que comprenden dos secuencias Fc unidas en tándem por un enlazador que conecta el extremo N de una primera secuencia de Fc con el extremo C de una segunda secuencia de Fc. En algunas realizaciones, un monómero comprende una secuencia de polipéptido (por ejemplo, una glicomuteína GDF15 o GDF15 modificada madura) unida a la primera secuencia de Fc por un primer enlazador que conecta el extremo N de la secuencia GDF15 al extremo C de la primera secuencia de Fc, donde la primera secuencia de Fc está unida a la segunda secuencia de Fc por un segundo enlazador que conecta el extremo N de la primera secuencia de Fc con el extremo C de la segunda secuencia de Fc. La primera y la segunda secuencia de Fc también están asociadas por las regiones bisagra Fc. Dos de tales monómeros se asocian para formar un dímero en el que los monómeros están unidos a través de un enlace de disulfuro intercatenario entre las dos secuencias de polipéptidos. Para ejemplos de polipéptidos hemiFc adecuados para su uso con las muteínas GDF15 de la presente descripción, véase el documento WO 2013/113008.

La presente descripción contempla también proteínas de fusión que tienen un multímero de polipéptidos Fc, o fragmentos de los mismos, que incluyen un socio de un par Fc cargado (por ejemplo, multímero de un Fc).

Los complejos de la presente descripción tienen propiedades mejoradas tales como aumento de la solubilidad, disminución de la agregación, y/o aumento de la vida media del suero. En ciertos casos, la solubilidad de los complejos es generalmente mejoró con respecto a GDF15 humano recombinante no conjugado y GDF15 de tipo salvaje conjugado de Fc (botón u ojal). En ciertos casos, el complejo tiene una solubilidad de al menos 1 mg/ml en solución salina amortiguada con fosfato (PBS) a pH 7.0. En otros casos, el complejo tiene una solubilidad de al menos 2 mg/ml, al menos 3 mg/ml, al menos 4 mg/ml o al menos 5 mg/ml. En otros casos, el complejo tiene una solubilidad de al menos 6 mg/ml en solución salina amortiguada con fosfato (PBS) a pH 7.0, al menos 7 mg/ml, al menos 8 mg/ml, al menos 9 mg/ml o a al menos 10 mg/ml. En casos particulares, el complejo tiene una solubilidad de más de 10 mg/ml.

Glicosilación: Para los propósitos de la presente descripción, "glicosilación" se refiere en general al procedimiento enzimático que une los glicanos a proteínas, lípidos u otras moléculas orgánicas. El uso del término "glicosilación" en conjunción con la presente descripción generalmente pretende significar agregar o eliminar una o más porciones de carbohidratos (ya sea eliminando el sitio de glicosilación subyacente o eliminando la glicosilación por medios químicos y/o enzimáticos), y/o agregando uno o más sitios de glicosilación que pueden o no estar presentes en la secuencia nativa. Además, la frase incluye cambios cualitativos en la glicosilación de las proteínas naturales que implican un cambio en la naturaleza y en las proporciones de las diversas porciones de carbohidratos presentes.

La glicosilación puede afectar drásticamente a las propiedades físicas de las proteínas y también puede ser importante en la estabilidad de las proteínas, la secreción y la localización subcelular. De hecho, la glicosilación de los polipéptidos de muteína GDF15 descritos en esta invención imparten mejoras beneficiosas a sus propiedades físicas. A modo de ejemplo, pero sin limitación, la solubilidad de las muteínas GDF15 se puede mejorar mediante glicosilación, y tal mejora puede ser sustancial (véanse los ejemplos). La mejora en la solubilidad mostrada por tales muteínas GDF15 modificadas puede, por ejemplo, permitir la generación de formulaciones más adecuadas para la administración farmacéutica que las muteínas GDF15/GDF15 no glicosiladas. Los polipéptidos de muteína GDF15/GDF15 glicosiladas también pueden exhibir una estabilidad mejorada. Además, los polipéptidos pueden mejorar una o más propiedades farmacocinéticas, tales como la vida media.

La adición de sitios de glicosilación se puede lograr alterando la secuencia de aminoácidos como se describió anteriormente. La alteración del polipéptido se puede realizar también, por ejemplo, mediante la adición de, o sustitución por, uno o más residuos de serina o treonina (para los sitios de glicosilación de enlace-O) o residuos de asparagina (para los sitios de glicosilación de enlace-N). Las estructuras de oligosacáridos de enlace-N y de enlace-O y los residuos de azúcar encontrados en cada tipo pueden ser diferentes. Un tipo de azúcar que se encuentra comúnmente en ambos es el ácido N-acetilneuramínico (en adelante denominado ácido siálico). El ácido siálico es generalmente el residuo terminal de ambos oligosacáridos de enlace-N y de enlace-O y, en virtud de su carga negativa, puede conferir propiedades ácidas a la glicoproteína. Una realización particular de la presente descripción comprende la generación y uso de las variantes de N-glicosilación tal como se describe anteriormente.

Otro medio para aumentar el número de porciones de carbohidratos en el polipéptido es mediante acoplamiento químico o enzimático de glucósidos al polipéptido.

Las células de ovario de hámster chino (CHO) deficientes en dihidrofolato reductasa (DHFR) son una célula huésped comúnmente utilizada para la producción de glicoproteínas recombinantes. Estas células no expresan la enzima beta-galactosidasa alfa-2,6-sialiltransferasa y, por lo tanto, no agregan ácido siálico en el enlace de alfa-2,6 a los oligosacáridos de enlace-N de las glicoproteínas producidas en estas células.

En casos particulares, las muteínas GDF15 que comprenden al menos un sitio de consenso de glicosilación de enlace-N son glicosiladas. Por lo tanto, en casos particulares, las muteínas GDF15 en los complejos descritos en esta invención pueden estar glicosiladas en el sitio de consenso de glicosilación de enlace-N introducido en la muteína GDF15. En ciertos casos, mientras que un complejo descrito en esta invención puede incluir GDF15 glicosilado, tal como, GDF15 glicosilado producido durante la expresión de una línea celular, el complejo se puede tratar con post-producción para eliminar la porción de carbohidrato. La eliminación post-producción de la porción de carbohidrato puede resultar en la eliminación de sustancialmente todos los grupos de carbohidratos unidos a la muteína GDF15 (y la secuencia de Fc) durante la expresión en una célula huésped eucariota.

Por lo tanto, la presente descripción contempla la conjugación de uno o más componentes o moléculas adicionales en el extremo N y/o el extremo C de una secuencia de polipéptidos, tal como otra proteína (por ejemplo, una proteína que tiene una secuencia de aminoácidos heteróloga a la proteína sujeto) o una molécula portadora. Por lo tanto, una secuencia de polipéptidos ejemplar se puede proporcionar como un conjugado con otro componente o molécula.

Un polipéptido también puede conjugarse con macromoléculas grandes, metabolizadas lentamente, tales como proteínas; polisacáridos, tales como sefarsa, agarosa, celulosa, perlas de celulosa; aminoácidos poliméricos tales

como ácido poliglútmico, polilisina; copolímeros de aminoácidos; partículas de virus inactivadas; toxinas bacterianas inactivadas tales como toxoide de la difteria, tétanos, cólera, moléculas de leucotoxina; bacterias inactivadas; y células dendríticas. Tales formas conjugadas, si se desea, se pueden utilizar para producir anticuerpos contra un polipéptido de la presente descripción. En ciertos casos, GDF15 en los complejos descritos en esta invención puede ser

Componentes candidatos adicionales y moléculas para la conjugación incluyen aquellos adecuados para aislamiento o purificación. Los ejemplos no limitativos particulares incluyen las moléculas de unión, tales como biotina (par de unión específica biotina-avidina), un anticuerpo, un receptor, un ligando, una lectina, o moléculas que comprenden un

Los procedimientos de purificación tales como la cromatografía de intercambio catiónico pueden usarse para separar conjugados por diferencia de carga, que separa efectivamente los conjugados en sus diversos pesos moleculares. Por ejemplo, la columna de intercambio catiónico puede cargarse y, a continuación, lavarse con acetato de sodio a -20 mM, pH ~4, y, a continuación, eluirse con un gradiente lineal de NaCl (0 M a 0,5 M) amortiguado a un pH de aproximadamente 3 a 5,5, por ejemplo, a pH -4,5. El contenido de las fracciones obtenidas por cromatografía de intercambio catiónico puede identificarse por peso molecular mediante el uso de procedimientos convencionales, por ejemplo, espectroscopia de masas, SDS-PAGE u otros procedimientos conocidos para separar entidades moleculares por peso molecular.

Enlazadores: Cualquiera de los componentes y moléculas anteriores utilizados para modificar las secuencias polipeptídicas de la presente descripción se puede conjugar opcionalmente a través de un enlazador. Los enlazadores adecuados incluyen "enlazadores flexibles" que generalmente tienen una longitud suficiente para permitir cierto movimiento entre las secuencias de polipéptidos modificados y los componentes y moléculas unidos. Las moléculas enlazadoras pueden tener una longitud de aproximadamente 6-50 átomos. Las moléculas enlazadoras también pueden ser, por ejemplo, acetileno de arilo, oligómeros de etilenglicol que contienen 2-10 unidades de monómeros, diaminas, diácidos, aminoácidos o combinaciones de estos. Los enlazadores adecuados pueden seleccionarse fácilmente y pueden tener cualquier longitud adecuada, tal como 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 10-20, 20-30, 30-50 aminoácidos.

Los enlazadores flexibles ejemplares incluyen polímeros de glicina (G_n), polímeros de glicina-alanina, polímeros de alanina-serina, polímeros de glicina-serina (por ejemplo, $(G_mS_o)_n$, $(GSGGS)_n$ (SEQ ID NO: 120), $(G_mS_oG_m)_n$, $(G_mS_oG_mS_oG_m)_n$ (SEQ ID NO: 121), $(GSGGS_m)_n$ (SEQ ID NO: 122), $(GSGS_mG)_n$ (SEQ ID NO: 123) y $(GGGS_m)_n$ (SEQ ID NO: 124), y sus combinaciones, donde m, n y o se seleccionan cada uno independientemente de un número entero de al menos 1 a 20, por ejemplo, 1-18, 2-16, 3-14, 4-12, 5-10, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10) y otros enlazadores flexibles. Polímeros de glicina y glicina-serina están relativamente desestructurados y, por lo tanto, pueden servir como una conexión neutra entre los componentes. Los enlazadores flexibles ejemplares incluyen, pero no se limitan a GGSG (SEQ ID NO: 21), GSGGG (SEQ ID NO: 22), GSGSG (SEQ ID NO: 23), GSGGG (SEQ ID NO: 24), GGGSG (SEQ ID NO: 25), y GSSSG (SEQ ID NO: 26).

Los enlazadores flexibles adicionales incluyen polímeros de glicina (G_n) o polímeros de glicina-serina (por ejemplo, $(GS)_n$, $(GSGGS)_n$ (SEQ ID NO: 120), $(GGGS)_n$ (SEQ ID NO: 125) y $(GGGGS)_n$ (SEQ ID NO: 126), donde n=1 a 50, por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 10-20, 20-30, 30-50). Los enlazadores flexibles ejemplares incluyen, pero no se limitan a GGGS (SEQ ID NO: 19), GGGGS (SEQ ID NO: 20), GGSG (SEQ ID NO: 21), GSGGG (SEQ ID NO: 22), GSGSG (SEQ ID NO: 23), GSGGG (SEQ ID NO: 24), GGGSG (SEQ ID NO: 25), y GSSSG (SEQ ID NO: 26). Un multímero (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 10-20, 20-30 o 30-50) de estas secuencias enlazadoras puede estar unido entre sí para proporcionar enlazadores flexibles que puedan ser usados para conjugar una secuencia de aminoácidos heteróloga a los polipéptidos descritos en esta invención. Tal como se describe en esta invención, la secuencia de aminoácidos heteróloga puede ser una secuencia de señalización y/o un socio de fusión, tal como albúmina, secuencia de Fc y similares.

Ejemplos de enlazadores incluyen, por ejemplo, $(GGGGS)_n$ (SEQ ID NO: 126), donde n es un entero de 1 a aproximadamente 10 (por ejemplo, n = 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, o 10); GGGSGGGSIEGR (SEQ ID NO: 48); GGGGG (SEQ ID NO: 27); EGGGS (SEQ ID NO: 28).

En algunos casos, el enlazador puede ser un enlazador escindible, por ejemplo, un enlazador enzimáticamente escindible. En otros casos, el enlazador puede ser un enlazador no escindible, por ejemplo, un enlazador que no se escinde enzimáticamente en condiciones fisiológicas normales *in vivo*.

Por ejemplo, un enlazador proteolíticamente escindible puede incluir un sitio de escisión de metaloproteinasa de matriz (MMP), por ejemplo, un sitio de escisión para una MMP seleccionada de colagenasa-1, -2, y -3 (MMP-1, -8, y -13),

gelatinasa A y B (MMP-2 y -9), estromelina 1, 2, y 3 (MMP-3, 10, y -11), matrilina (MMP-7), y metaloproteinasas de membrana (MT1-MMP y MT2-MMP). La secuencia de escisión de MMP-9 es Pro-X-X-Hy (donde, X representa un residuo arbitrario; Hy, un residuo hidrófobo), (SEQ ID NO: 29), por ejemplo, Pro-X-X-Hy-(Ser/Thr) (SEQ ID NO: 30), por ejemplo, Pro-Leu/Gln-Gly-Met-Thr-Ser (SEQ ID NO: 31) o Pro-Leu/Gln-Gly-Met-Thr (SEQ ID NO: 32). Otro ejemplo de un sitio de escisión de proteasa es un sitio de escisión activador de plasminógeno, por ejemplo, un sitio de escisión uPA o un sitio de escisión de activador de plasminógeno tisular (tPA). Los ejemplos específicos de secuencias de escisión de uPA y tPA incluyen secuencias que comprenden Val-Gly-Arg. Otro ejemplo es un sitio de escisión de trombina, por ejemplo, CGLVPAGSGP (SEQ ID NO: 33). Los enlazadores adecuados adicionales que comprenden sitios de escisión de proteasas incluyen enlazadores que comprenden una o más de las siguientes secuencias de aminoácidos: 1); SLLKSRMVPNFN (SEQ ID NO: 34) o SLLIARRMPNFN (SEQ ID NO: 35), escindida por cathepsina B; SKLVQASASGVN (SEQ ID NO: 36) o SSYLKASDAPDN (SEQ ID NO: 37), escindida por una proteasa del virus Epstein-Barr; RPKPQQFFGLMN (SEQ ID NO: 38) escindida por MMP-3 (estromelina); SLRPLALWRSFN (SEQ ID NO: 39) escindida por MMP-7 (matrilina); SPQGIAGQRNFN (SEQ ID NO: 40) escindida por MMP-9; DVDERDVRGFASFL (SEQ ID NO: 41) escindida por una MMP de tipo termolisina; SLPLGLWAPNFN (SEQ ID NO: 42) escindida por metaloproteinasa de matriz 2(MMP-2); SLLIFRSWANFN (SEQ ID NO: 43) escindida por cathepsina L; SGVVIATVIVIT (SEQ ID NO: 44) escindida por cathepsina D; SLGPQGIWGQFN (SEQ ID NO: 45) escindida por metaloproteinasa de matriz 1(MMP-1); KKSPGRVVGGSV (SEQ ID NO: 46) escindida por activador del plasminógeno de tipo urocinasa; PQGLLGAPGILG (SEQ ID NO: 47) escindida por metaloproteinasa de matriz de membrana de tipo 1 (MT-MMP); HGPEGLRVGFYESDVMGRGHARLVHVEEPT (SEQ ID NO: 94) escindida por estromelina 3 (o MMP-11), termolisina, collagenasa de fibroblastos y estromelina-1; GPQGLAGQRGIV (SEQ ID NO: 49) escindida por metaloproteinasa de matriz 13 (collagenasa-3); GSGQQRGRKALE (SEQ ID NO: 50) escindida por activador del plasminógeno de tipo tisular (tPA); SLSALLSSDIFN (SEQ ID NO: 51) escindida por antígeno específico de próstata humano; SLPRFKIIGGFN (SEQ ID NO: 52) escindida por calicreína (hK3); SLLGIAVPGNFN (SEQ ID NO: 53) escindida por elastasa de neutrófilos; y FFKNIVTPRTPP (SEQ ID NO: 54) escindida por calpaína (proteasa neutra activada por calcio).

Además de las secuencias de aminoácidos específicas y las secuencias de ácido nucleico proporcionadas en esta invención, la descripción contempla también polipéptidos y ácidos nucleicos que tienen secuencias que son al menos en un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 % o al menos un 95 % idénticas en secuencia a los aminoácidos y ácidos nucleicos. Los términos "idéntica" o "identidad" porcentual, en el contexto de dos o más secuencias de polinucleótidos, o dos o más secuencias de aminoácidos, se refieren a dos o más secuencias o subsecuencias que son iguales o tienen un porcentaje específico de residuos de aminoácidos o nucleótidos que son iguales (por ejemplo, al menos en un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, o al menos un 95 % idénticos en una región especificada), cuando se comparan y se alinean para obtener la correspondencia máxima sobre una región designada. La descripción contempla específicamente el primer y segundo polipéptido presente en un complejo, el primer polipéptido y el segundo polipéptido que tienen una secuencia de aminoácidos que es al menos en un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 %, o al menos un 99 % idéntica en la secuencia a la secuencia de aminoácidos del primer y segundo polipéptido, respectivamente, de los primer y segundo pares de polipéptidos proporcionados en esta invención.

Procedimientos de producción de polipéptidos

Se puede producir un polipéptido de la presente descripción por cualquier procedimiento adecuado, que incluye procedimientos recombinantes y no recombinantes (por ejemplo, síntesis química).

A. Síntesis química

Cuando se sintetiza químicamente un polipéptido, la síntesis puede llevarse a cabo mediante una fase líquida o una fase sólida. La síntesis de péptidos en fase sólida (SPPS) permite la incorporación de modificaciones en la estructura principal de aminoácidos y/o péptidos/proteínas no naturales. Diversas formas de SPPS, tales como Fmoc y Boc, están disponibles para sintetizar polipéptidos de la presente descripción. Los detalles de la síntesis química son conocidos en la técnica (por ejemplo, Ganesan A. 2006 Mini Rev. Med. Chem. 6:3-10 y Camarero JA y col. 2005 Protein Pept Lett. 12:723-8).

B. Producción recombinante

Cuando se produce un polipéptido mediante el uso de técnicas recombinantes, el polipéptido se puede producir como una proteína intracelular o como una proteína secretada, usando cualquier construcción adecuada y cualquier célula huésped adecuada, que puede ser una célula procariota o eucariota, tal como una bacteria (por ejemplo, *E. coli*) o una célula huésped de levadura, respectivamente. Otros ejemplos de células eucariotas que pueden utilizarse como células huésped incluyen células de insectos, células de mamíferos y/o células vegetales. Cuando se utilizan células huésped de mamífero que pueden incluir células humanas (por ejemplo, células HeLa, 293, H9 y Jurkat), células de

ratones (por ejemplo, NIH3T3, células L y células C127), células de primates (por ejemplo, Cos 1, Cos 7 y CV1) y células de hámster (por ejemplo, células de ovario de hámster chino (CHO)). En realizaciones específicas, el polipéptido y complejos que comprenden el polipéptido se produce en células CHO. En otras realizaciones, el polipéptido y complejos que comprenden el polipéptido se produce en una célula de levadura y en realizaciones
 5 particulares puede ser una célula de levadura manipulada genéticamente para producir glicoproteínas con N-glicanos de tipo mamífero.

Una variedad de sistemas de vector huésped adecuados para la expresión de un polipéptido se pueden emplear según procedimientos estándar conocidos en la técnica. Véase, por ejemplo, Sambrook y col., 1989 Protocolos actuales en
 10 biología molecular, Cold Spring Harbor Press, Nueva York ; y Ausubel y col. 1995 Protocolos actuales en biología molecular, eds. Wiley and Sons. Los procedimientos para la introducción de material genético dentro de las células huésped incluyen, por ejemplo, los procedimientos de transformación, electroporación, conjugación, fosfato de calcio y similares. El procedimiento para transferir puede seleccionarse de tal forma que proporcione una expresión estable del ácido nucleico codificante de polipéptido introducido. El ácido nucleico codificante de polipéptido puede
 15 proporcionarse como un elemento episomal hereditario (por ejemplo, un plásmido) o integrarse de forma genómica. Se encuentran disponibles a nivel comercial diversos vectores adecuados para utilizar en la producción de un polipéptido de interés.

Los vectores pueden proporcionar mantenimiento extracromosómico en una célula huésped o pueden proporcionar
 20 integración en el genoma de la célula huésped. El vector de expresión proporciona secuencias reguladoras transcripcionales y traduccionales, y puede proporcionar una expresión inducible o constitutiva donde la región codificante se encuentra unida de forma operativa bajo el control transcripcional de la región de inicio transcripcional y una región de terminación transcripcional y traduccional. En general, las secuencias reguladoras transcripcionales y traduccionales pueden incluir, de forma no limitativa, secuencias promotoras, sitios de unión ribosómicos, secuencias
 25 de inicio y detención transcripcionales, secuencias de inicios y detención traduccionales y secuencias potenciadoras o de activación. Los promotores pueden ser constitutivos o inducibles y pueden ser un promotor constitutivo fuerte (por ejemplo, T7).

Las construcciones de expresión generalmente tienen sitios de restricción convenientes ubicados cerca de la
 30 secuencia promotora para proporcionar la inserción de secuencias de ácido nucleico que codifican proteínas de interés. Un marcador seleccionable operativo en el huésped de expresión puede estar presente para facilitar la selección de células que contienen el vector. Además, las construcciones de expresión pueden incluir elementos adicionales. Por ejemplo, el vector de expresión puede tener uno o dos sistemas de replicación, que le permiten, de esta manera, mantenerse en organismos, por ejemplo, en células de mamífero o insecto para la expresión y en un huésped
 35 procariota para la clonación y amplificación. Además, la construcción de expresión puede contener un gen marcador seleccionable para permitir la selección de células huésped transformadas. Los genes seleccionables son ampliamente conocidos en la técnica y variarán dependiendo de la célula huésped utilizada.

El aislamiento y la purificación de una proteína puede llevarse a cabo según procedimientos conocidos en la técnica.
 40 Por ejemplo, una proteína se puede aislar a partir de un lisado de células modificadas genéticamente para expresar la proteína constitutivamente y/o después de la inducción; del medio de cultivo en el que se ha cultivado la célula huésped; o de una mezcla de reacción sintética, mediante purificación por afinidad, que puede implicar poner en contacto la muestra (lisado celular, medio de cultivo, o de la mezcla de reacción) con una etiqueta que se une específicamente a la proteína, lavado para eliminar material no-específicamente unido, y eluyendo la proteína unida
 45 específicamente. Esta proteína aislada puede ser purificada adicionalmente mediante diálisis y otros procedimientos empleados normalmente en los procedimientos de purificación de proteínas. En un caso, la proteína puede aislarse usando procedimientos de cromatografía de quelato metálico. Las proteínas pueden contener modificaciones para facilitar el aislamiento. En ciertos casos, los complejos de la presente descripción se pueden separar basándose en el tamaño.

50 En ciertos casos, un complejo que comprende un primer polipéptido y un segundo polipéptido, comprendiendo el primer polipéptido una secuencia de IgG Fc, comprendiendo la secuencia de IgG Fc una secuencia CH3 que comprende al menos una protuberancia diseñada; comprendiendo el segundo polipéptido una secuencia IgG Fc, comprendiendo la secuencia IgG Fc una secuencia CH3 que comprende al menos una cavidad diseñada; donde el
 55 primer polipéptido se dimeriza con el segundo polipéptido mediante la colocación de la protuberancia del primer polipéptido en la cavidad del segundo polipéptido, donde el extremo C del primer polipéptido o el extremo C del segundo polipéptido se conjuga con el extremo N de una proteína GDF15 que comprende al menos un sitio de consenso de glicosilación de enlace-N puede aislarse del medio en el que se cultiva una célula huésped que expresa el primer y
 60 segundo polipéptido.

En ciertos casos, un complejo que comprende un primer heterodímero y un segundo heterodímero, comprendiendo cada uno del primer heterodímero y el segundo heterodímero un primer polipéptido y un segundo polipéptido,

comprendiendo el primer polipéptido una secuencia IgG Fc, comprendiendo la secuencia IgG Fc una secuencia CH3 que comprende al menos una protuberancia diseñada; comprendiendo el segundo polipéptido una secuencia IgG Fc, comprendiendo la secuencia IgG Fc una secuencia CH3 que comprende al menos una cavidad diseñada; donde el primer polipéptido se dimeriza con el segundo polipéptido mediante la colocación de la protuberancia del primer polipéptido en la cavidad del segundo polipéptido, donde el extremo C del primer polipéptido o el extremo C del segundo polipéptido se conjuga con el extremo N de una muteína GDF15 que comprende al menos un sitio de consenso de glicosilación de enlace-N, donde la muteína GDF15 en el primer heterodímero se dimeriza con la muteína GDF15 en el segundo heterodímero formando así el complejo que comprende el primer heterodímero y el segundo heterodímero puede aislarse del medio en el que se cultiva una célula huésped que expresa el primer y segundo polipéptido.

Como se ha señalado en esta invención, un primer y un segundo ácido nucleico puede estar presente en un único vector o vectores separados en una única célula huésped o dos células huésped diferentes. En ciertos casos, el primer y segundo polipéptidos de la presente descripción pueden ser codificados por un primer y segundo ácido nucleico, respectivamente, que puede estar presente expresado en la misma célula. En los casos en que el primer y segundo ácidos nucleicos están presentes en diferentes células, las células pueden fusionarse como algún punto durante el procedimiento de producción.

Los complejos pueden prepararse de forma sustancialmente pura o aislada (por ejemplo, libre de otros polipéptidos). Los complejos pueden estar presentes en una composición que está enriquecida para los complejos con respecto a otros componentes que pueden estar presentes (por ejemplo, otros polipéptidos u otros complejos (por ejemplo, homodímeros, homotetrámeros) u otros componentes de la célula huésped). Por ejemplo, se puede proporcionar un complejo purificado (por ejemplo, un complejo heterodímero-heterodímero) de modo que el complejo esté presente en una composición que esté sustancialmente libre de otras proteínas expresadas, por ejemplo, menos del 90 %, menos del 60 %, menos del 50 %, menos del 40 %, menos del 30 %, menos del 20 %, menos del 10 %, menos del 5 % o menos del 1 % de la composición está constituido por otras proteínas expresadas.

Anticuerpos

La presente descripción proporciona anticuerpos, que incluyen anticuerpos aislados que se unen específicamente a un polipéptido o proteína de fusión de la presente descripción. El término "anticuerpo" abarca anticuerpos monoclonales intactos, anticuerpos policlonales, anticuerpos multispecíficos (por ejemplo, anticuerpos biespecíficos) formados a partir de al menos dos anticuerpos intactos, y fragmentos de unión de anticuerpos que incluyen Fab y F(ab')₂, siempre que presenten la actividad biológica deseada. La unidad estructural básica del anticuerpo completo comprende un tetrámero, y cada tetrámero está compuesto de dos pares idénticos de cadenas de polipéptidos, teniendo cada par una cadena "ligera" (aproximadamente 25 kDa) y una cadena "pesada" (aproximadamente 50-70 kDa). La porción amino-terminal de cada cadena incluye una región variable de aproximadamente 100 a 110 o más aminoácidos principalmente responsables del reconocimiento de antígenos. En cambio, la porción carboxi-terminal de cada cadena define una región constante que es la principal responsable de la función efectora. Las cadenas ligeras humanas se clasifican como kappa y lambda, mientras que las cadenas pesadas humanas se clasifican como mu, delta, gamma, alfa o epsilon, y definen el isotipo del anticuerpo como IgM, IgD, IgG, IgA e IgE, respectivamente. Los fragmentos de unión se producen por técnicas de ADN recombinante o por escisión enzimática o química de anticuerpos intactos. Los fragmentos de unión incluyen Fab, Fab', F(ab')₂, Fv, y anticuerpos de cadena única.

Cada cadena pesada tiene en un extremo un dominio variable (VH) seguido de varios dominios constantes. Cada cadena ligera tiene un dominio variable (VL) en un extremo y un dominio constante en su otro extremo, el dominio constante de la cadena ligera está alineado con el primer dominio constante de la cadena pesada y el dominio variable de la cadena ligera está alineado con el dominio variable de la cadena pesada. Dentro de las cadenas ligera y pesada, las regiones variable y constante están unidas por una región "J" de aproximadamente 12 o más aminoácidos, e incluyendo también la cadena pesada una región "D" de aproximadamente 10 o más aminoácidos. Todas las cadenas de anticuerpos presentan la misma estructura general de regiones marco relativamente conservadas (FR) unidas por tres regiones hipervariables, también llamadas "regiones determinantes de complementariedad" o "CDR". Las CDR de las dos cadenas de cada par están alineadas por las regiones marco, permitiendo la unión a un epítopo específico. Desde el N-terminal al C-terminal, tanto las cadenas ligeras como las pesadas comprenden los dominios FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 y FR4.

Un anticuerpo intacto tiene dos sitios de unión y, excepto en los anticuerpos bifuncionales o biespecíficos, los dos sitios de unión son los mismos. Un anticuerpo biespecífico o bifuncional es un anticuerpo híbrido artificial que tiene dos pares de cadenas pesadas/ligeras diferentes y dos sitios de unión diferentes. Los anticuerpos biespecíficos se pueden producir mediante una variedad de procedimientos que incluyen la fusión de hibridomas o la unión de fragmentos Fab'.

Como se expuso anteriormente, los fragmentos de unión pueden producirse por escisión enzimática o química de

anticuerpos intactos. La digestión de anticuerpos con la enzima papaína resulta en dos fragmentos de unión a antígeno idénticos, también conocidos como fragmentos "Fab", y un fragmento "Fc" que no tiene actividad de unión a antígeno. La digestión de anticuerpos con la enzima pepsina resulta en un fragmento $F(ab')_2$ en el que los dos brazos de la molécula de anticuerpo permanecen unidos y comprenden sitios de unión de dos antígenos. El fragmento $F(ab')_2$ tiene la capacidad de reticular antígeno.

Como se usa en esta invención, el término "Fab" se refiere a un fragmento de un anticuerpo que comprende regiones VH y VL, así como el dominio constante de la cadena ligera y el dominio CH1 de la cadena pesada.

10 Cuando se usa en esta invención, el término "Fv" se refiere al fragmento mínimo de un anticuerpo que retiene tanto el reconocimiento de antígeno como los sitios de unión a antígeno. En una especie Fv de cadena doble, esta región incluye un dímero de un dominio variable de cadena pesada y uno de cadena ligera en una asociación no covalente. En una especie Fv de cadena única, un dominio variable de cadena ligera y uno de cadena pesada pueden unirse covalentemente por un enlazador peptídico flexible de modo que las cadenas ligera y pesada puedan asociarse en una estructura "dimérica" análoga a aquella en una especie Fv de cadena doble. En esta configuración, las tres CDR de cada dominio variable interactúan para definir un sitio de unión a antígeno en la superficie del dímero VH-VL. Mientras que las seis CDR, confieren colectivamente especificidad de unión de antígeno al anticuerpo, incluso un dominio variable único (o la mitad de un Fv que comprende solamente tres CDR específicas para un antígeno) tiene la capacidad de reconocer y unir un antígeno.

20 Cuando se usa en esta invención, el término "regiones de determinación de complementariedad" o "CDR" se refiere a partes de receptores inmunológicos que entran en contacto con un ligando específico y determinan su especificidad.

El término "región hipervariable" se refiere a los residuos de aminoácidos de un anticuerpo que son responsables de la unión al antígeno. La región hipervariable comprende generalmente residuos de aminoácidos de una CDR y/o esos residuos de un "bucle hipervariable".

Como se usa en esta invención, el término "epítipo" se refiere a sitios de unión para anticuerpos en antígenos proteicos. Los determinantes epitópicos comprenden generalmente agrupaciones de superficie químicamente activas de moléculas tales como cadenas laterales de azúcar o aminoácidos, así como características estructurales tridimensionales específicas y de carga. Se dice que un anticuerpo se une a un antígeno cuando la constante de disociación es $\leq 1 \mu M$, $\leq 100 nM$, o $\leq 10 nM$. Una constante de equilibrio aumentada (" K_D ") significa que hay menos afinidad entre el epítipo y el anticuerpo, mientras que una constante de equilibrio disminuida significa que hay más afinidad entre el epítipo y el anticuerpo. Un anticuerpo con una K_D de "no más de" una cierta cantidad significa que el anticuerpo se unirá al epítipo con la K_D dada o con más fuerza. Mientras que K_D describe las características de unión de un epítipo y un anticuerpo, la "potencia" describe la efectividad del propio anticuerpo para una función del anticuerpo. No hay necesariamente una correlación entre una constante de equilibrio y potencia; así, por ejemplo, una K_D relativamente baja no significa automáticamente una alta potencia.

40 El término "se une selectivamente" en referencia a un anticuerpo no significa que el anticuerpo solo se une a una sola sustancia, sino que la K_D del anticuerpo a una primera sustancia es menor que la K_D del anticuerpo a una segunda sustancia. Un anticuerpo que se une exclusivamente a un epítipo solo se une a ese epítipo único.

45 Cuando se administran a humanos, los anticuerpos que contienen regiones variables y/o constantes de roedores (es decir, murinas o ratas) en ocasiones se asocian, por ejemplo, con una eliminación rápida del cuerpo o la generación de una respuesta inmune del cuerpo contra el anticuerpo. Con el fin de evitar la utilización de anticuerpos derivados de roedores, se pueden generar anticuerpos completamente humanos por medio de la introducción de la función de anticuerpos humanos en un roedor, de manera que el roedor produzca anticuerpos completamente humanos. A menos que se identifique específicamente en esta invención, los anticuerpos "humanos" y "completamente humanos" se pueden usar indistintamente. El término "completamente humano" puede ser útil al distinguir anticuerpos que son solo parcialmente humanos de aquellos que son total o completamente humanos. El experto en la materia conoce varios procedimientos para generar anticuerpos completamente humanos.

Con el fin de abordar las posibles respuestas de anticuerpos antirratón humanos, se pueden utilizar anticuerpos quiméricos o de otro modo humanizados. Los anticuerpos quiméricos tienen una región constante humana y una región variable murina y, como tales, pueden observarse respuestas del anticuerpo antiquimérico humano en algunos pacientes. Por lo tanto, es ventajoso proporcionar anticuerpos completamente humanos contra enzimas multiméricas con el fin de evitar posibles respuestas de un anticuerpo antirratón humano o de un anticuerpo antiquimérico humano.

60 Los anticuerpos monoclonales completamente humanos pueden prepararse, por ejemplo, mediante la generación de líneas celulares de hibridoma mediante técnicas conocidas por el experto en la materia. Otros procedimientos de preparación implican el uso de secuencias que codifican anticuerpos particulares para la transformación de una célula

huésped de mamífero adecuada, tal como una célula CHO. La transformación podría realizarse mediante cualquier procedimiento conocido para introducir polinucleótidos en una célula huésped, incluyendo, por ejemplo, envasar el polinucleótido en un virus (o en un vector viral) y transducir una célula huésped con el virus (o vector) o mediante procedimientos de transfección conocidos en la técnica. Los procedimientos para introducir polinucleótidos heterólogos en células de mamífero son bien conocidos en la técnica e incluyen transfección mediada por dextrano, precipitación de fosfato de calcio, transfección mediada por polibreno, fusión de protoplastos, electroporación, encapsulación del o los polinucleótidos en liposomas y microinyección directa del ADN dentro de los núcleos. Las líneas celulares de mamíferos disponibles como huéspedes para la expresión son ampliamente conocidas en la técnica e incluyen, pero no se limitan a, células CHO, células HeLa y células de carcinoma hepatocelular humano.

Los anticuerpos se pueden usar para detectar un polipéptido de la presente descripción. Por ejemplo, los anticuerpos pueden usarse como un diagnóstico al detectar el nivel de uno o más polipéptidos de la presente descripción en un sujeto y comparar el nivel detectado con respecto a un nivel de control estándar o con respecto a un nivel de punto de referencia en un sujeto determinado anteriormente (por ejemplo, antes de cualquier enfermedad).

Usos terapéuticos y profilácticos

La presente descripción proporciona procedimientos para tratar o prevenir enfermedades metabólicas y metabólicas asociadas, tales como la obesidad y otros trastornos del peso corporal, hiperglucemia, hiperinsulinemia, intolerancia a la glucosa y trastornos del metabolismo de la glucosa, mediante la administración del complejo de la presente descripción, o composiciones de los mismos, como se describe en esta invención. Tales procedimientos también pueden tener un efecto ventajoso en uno o más síntomas asociados con una enfermedad, trastorno o afección al, por ejemplo, disminuir la gravedad o la frecuencia de un síntoma.

Con el fin de determinar si un sujeto puede ser candidato para el tratamiento o la prevención de un trastorno del peso corporal (por ejemplo, obesidad) mediante los procedimientos proporcionados en esta invención, se evaluarán parámetros tales como, entre otros, la etiología y el alcance de la afección del sujeto (por ejemplo, cómo se compara el sujeto con sobrepeso con el individuo sano de referencia). Por ejemplo, un adulto que tiene un IMC entre -25 y -29,9 kg/m² puede considerarse sobrepeso (pre-obeso), mientras que un adulto con un IMC de -30 kg/m² o más puede considerarse obeso. Como se trata en esta invención, un complejo de la presente invención puede efectuar la supresión del apetito, por ejemplo, disminuir el apetito que conduce a una reducción en el peso corporal.

Con el fin de determinar si un sujeto puede ser candidato para el tratamiento o la prevención de hiperglucemia, hiperinsulinemia, intolerancia a la glucosa y/o trastornos de la glucosa mediante los procedimientos proporcionados en esta invención, pueden utilizarse diversos procedimientos de diagnóstico conocidos en la técnica. Tales procedimientos incluyen aquellos descritos en otra parte en esta invención (por ejemplo, evaluación de la glucosa en plasma en ayunas (FPG) y la prueba de tolerancia a la glucosa oral (oGTT)).

Los complejos proporcionados en esta invención cuando se administran a un sujeto para tratar o prevenir enfermedades metabólicas y asociadas con el metabolismo, tales como obesidad y otros trastornos del peso corporal, hiperglucemia, hiperinsulinemia, intolerancia a la glucosa, trastornos del metabolismo de la glucosa pueden conducir a una reducción en el nivel de glucosa en sangre, una reducción en el peso corporal y/o una reducción en la ingesta de alimentos.

En ciertos casos, los complejos contemplados en esta invención pueden disminuir el nivel de glucosa en sangre, el peso corporal y/o la ingesta de alimentos en al menos un 5 % en comparación con la ausencia de administración de los complejos. Por ejemplo, los complejos contemplados en esta invención pueden disminuir el nivel de glucosa en sangre, el peso corporal y/o la ingesta de alimentos en al menos un 10 %, 20 %, 30 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 % o 90 % en comparación con los anteriores al inicio del tratamiento o prevención.

En ciertos casos, un complejo de la presente descripción usado para tratar un trastorno metabólico puede ser un complejo que incluye dos moléculas de heterodímero por complejo, donde cada heterodímero es el mismo, e incluye un primer polipéptido y un segundo polipéptido, donde el primer polipéptido incluye una secuencia IgG Fc, la secuencia IgG Fc puede incluir una secuencia CH3 que comprende al menos una protuberancia diseñada; comprendiendo el segundo polipéptido una secuencia IgG Fc, comprendiendo la secuencia IgG Fc una secuencia CH3 que comprende al menos una cavidad diseñada; donde el primer polipéptido se dimeriza con el segundo polipéptido mediante la colocación de la protuberancia del primer polipéptido en la cavidad del segundo polipéptido para formar un heterodímero, donde el extremo C del primer polipéptido o el extremo C del segundo polipéptido en cada heterodímero se conjuga con el extremo N de una muteína GDF15 que comprende al menos un sitio de consenso de glicosilación de enlace-N, donde la muteína GDF15 en el heterodímero se dimeriza con la muteína GDF15 en otro de los heterodímeros formando así el complejo que comprende dos heterodímeros.

En otros casos, un complejo de la presente descripción utilizado para tratar un trastorno metabólico puede ser un complejo que incluye dos moléculas de heterodímero (heterodímero asociado con heterodímero) por complejo, donde cada heterodímero es el mismo, y cada heterodímero incluye un primer polipéptido que tiene una secuencia de IgG Fc, la secuencia de IgG Fc puede incluir una secuencia de CH3 que comprende al menos una protuberancia diseñada, donde el extremo C del polipéptido se fusiona con el extremo N de la glicomuteína GDF15; y comprendiendo el segundo polipéptido una secuencia de IgG Fc, comprendiendo la secuencia de IgG Fc una secuencia CH3 que comprende al menos una cavidad diseñada; donde el primer polipéptido se dimeriza con el segundo polipéptido mediante la colocación de la protuberancia del primer polipéptido en la cavidad del segundo polipéptido para formar el heterodímero, donde la muteína GDF15 en el heterodímero se dimeriza con la muteína GDF15 en otro de los heterodímeros formando así el complejo que comprende los dos heterodímeros.

Composiciones farmacéuticas

Los complejos de la presente descripción pueden estar en forma de composiciones adecuadas para la administración a un sujeto. En general, tales composiciones son "composiciones farmacéuticas" que comprenden uno o más complejos y uno o más diluyentes, vehículos o excipientes farmacéuticamente aceptables o fisiológicamente aceptables. En ciertos casos, los complejos están presentes en una cantidad terapéuticamente efectiva en la composición farmacéutica. Las composiciones farmacéuticas se pueden utilizar en los procedimientos de la presente descripción; por lo tanto, por ejemplo, las composiciones farmacéuticas se pueden administrar ex vivo o in vivo a un sujeto para practicar los procedimientos y usos terapéuticos y profilácticos descritos en esta invención. Como se ha señalado en esta invención, los complejos pueden o pueden no estar glicosilados. Por ejemplo, los complejos pueden estar glicosilados como se produce en una célula huésped eucariota y pueden estar sujetos a un procedimiento para la eliminación de la porción de carbohidrato antes de la formulación en una composición farmacéutica. La eliminación de porciones de carbohidrato puede resultar en una reducción significativa en la glicosilación de los polipéptidos en los complejos o la completa ausencia de glicosilación de los polipéptidos en los complejos.

En casos específicos, la presente descripción proporciona procedimientos para tratar un metabolismo de la glucosa o el trastorno de peso corporal por la administración de los complejos, complejos N-glicosilados, o composiciones de los mismos. En el caso particular, los procedimientos de la presente descripción para reducir la ingesta de alimentos o disminuir el peso corporal mediante la administración de los complejos, complejos N-glicosilados o composiciones de los mismos. La presente descripción proporciona además un uso de las secuencias, complejos, complejos N-glicosilados anteriores o composiciones de los mismos en la fabricación de un medicamento para su uso en el tratamiento de una afección seleccionada de enfermedades metabólicas y metabólicas asociadas, tales como la obesidad y otros trastornos del peso corporal, hiperglucemia, hiperinsulinemia, intolerancia a la glucosa y trastornos del metabolismo de la glucosa. La presente descripción proporciona además un uso de las secuencias, complejos, complejos N-glicosilados anteriores o composiciones de los mismos en la fabricación de un medicamento para su uso en la reducción de la ingesta de alimentos o el peso corporal.

También se proporcionan en esta invención composiciones, por ejemplo, composiciones farmacéuticas de las secuencias, complejos y complejos N-glicosilados descritos en esta invención para tratar o prevenir una afección seleccionada de enfermedades metabólicas y metabólicas asociadas, tales como la obesidad y otros trastornos del peso corporal, hiperglucemia, hiperinsulinemia, intolerancia a la glucosa y trastornos del metabolismo de la glucosa. La presente descripción proporciona además una composición (por ejemplo, composición farmacéutica) de las secuencias, complejos o complejos N-glicosilados anteriores para tratar un trastorno del metabolismo de la glucosa o del peso corporal. La presente descripción proporciona además una composición (por ejemplo, composición farmacéutica) de las secuencias, complejos o complejos N-glicosilados anteriores para reducir la ingesta de alimentos o el peso corporal.

Las composiciones farmacéuticas de la presente descripción pueden formularse para que sean compatibles con el procedimiento o la vía de administración previstos; vías de administración ejemplares se exponen en esta invención. Además, las composiciones farmacéuticas se pueden utilizar en combinación con otros agentes o compuestos activos terapéuticamente (por ejemplo, agentes de disminución de la glucosa) tal como se describe en esta invención para tratar o prevenir las enfermedades, trastornos y afecciones tal como se contemplan en la presente descripción.

Las composiciones farmacéuticas comprenden típicamente una cantidad terapéuticamente efectiva de al menos uno de los complejos contemplados por la presente descripción y uno o más agentes de formulación farmacéutica y fisiológicamente aceptables. Los diluyentes, portadores o excipientes farmacéutica y fisiológicamente aceptables adecuados incluyen, pero no se limitan a, antioxidantes (por ejemplo, ácido ascórbico y bisulfato sódico), conservantes (por ejemplo, alcohol bencílico, parabenos de metilo, etilo o n-propilo, p-hidroxibenzoato), agentes emulsionantes,

agentes de suspensión, agentes de dispersión, disolventes, rellenos, agentes de carga, detergentes, amortiguadores, vehículos, diluyentes y/o adyuvantes. Por ejemplo, un vehículo adecuado puede ser una solución salina fisiológica o solución salina amortiguada de citrato, complementada posiblemente con otros materiales comunes en las composiciones farmacéuticas para la administración parenteral. Otros ejemplos de vehículos adicionales son una
 5 solución salina neutra amortiguada o una solución salina mezclada con albúmina de suero. Los expertos en la materia reconocerán rápidamente una variedad de amortiguadores que se podrían utilizar en composiciones farmacéuticas y formas de dosificación. Los amortiguadores incluyen típicamente, pero no se limitan a, ácidos débiles farmacéuticamente aceptables, bases débiles o mezclas de estos. Como ejemplo, los componentes amortiguadores pueden ser materiales solubles en agua tales como ácido fosfórico, ácidos tartáricos, ácido láctico, ácido succínico,
 10 ácido cítrico, ácido acético, ácido ascórbico, ácido aspártico, ácido glutámico y sales de estos. Los agentes amortiguadores aceptables incluyen, por ejemplo, un amortiguador Tris, ácido N-(2-hidroxi-etil)piperazina-N'-(2-etanosulfónico) (HEPES), ácido 2-(N-morfolino)etanosulfónico (MES), sal de sodio de ácido 2-(N-morfolino)etanosulfónico (MES), ácido 3-(N-morfolino)propanosulfónico (MOPS) y ácido N-tris[hidroximetil]metil-3-aminopropanosulfónico (TAPS).

15 Una vez que se haya formulado una composición farmacéutica, se puede almacenar en viales estériles como una solución, suspensión, gel, emulsión, polvo sólido, deshidratado o liofilizado. Tales formulaciones se pueden almacenar, ya sea en una forma lista para ser utilizada, una forma liofilizada que requiere reconstitución antes de ser utilizada, una forma líquida que requiere dilución antes de ser utilizada u otra forma aceptable. En algunas realizaciones, la
 20 composición farmacéutica se proporciona en un recipiente de un solo uso (por ejemplo, un vial, ampolla, jeringa o autoinyector de un solo uso (similar a, por ejemplo, un EpiPen®)), mientras que en otras realizaciones se proporciona un recipiente multiuso (por ejemplo, un vial multiuso). Se puede usar cualquier aparato de administración de fármacos para administrar los complejos, incluidos los implantes (por ejemplo, bombas implantables) y los sistemas de catéteres, ambos bien conocidos por el experto en la materia. Las inyecciones de depósito, que generalmente se administran
 25 por vía subcutánea o intramuscular, también se pueden utilizar para liberar los complejos descritos en esta invención durante un período de tiempo definido. Las inyecciones de depósito usualmente son a base de aceite o sólidos y generalmente comprenden al menos uno de los componentes de la formulación establecida en esta invención. Un experto en la materia está familiarizado con las formulaciones y usos posibles de inyecciones de depósito.

30 Las composiciones farmacéuticas pueden estar en forma de una suspensión acuosa u oleagosa inyectable estéril. Esta suspensión se puede formular según la técnica conocida con agentes de suspensión y agentes humectantes o dispersantes adecuados mencionados en esta invención. La preparación inyectable estéril también puede ser una solución o suspensión inyectable estéril en un diluyente o disolvente no tóxico parenteralmente aceptable, por ejemplo, una solución en 1,3-butanodiol. Los diluyentes, disolventes y medio de dispersión aceptables que se pueden emplear
 35 incluyen agua, solución de Ringer, solución de cloruro de sodio isotónico, Cremophor EL™ (BASF, Parsippany, NJ) o solución salina amortiguada con fosfato (PBS), etanol, poliol (por ejemplo, glicerol, propilenglicol y polietilenglicol líquido) y mezclas adecuadas de los mismos. Además, se emplean convencionalmente aceites no volátiles estériles como un disolvente o medio de suspensión. Con este propósito, se puede emplear cualquier aceite no volátil insípido, inclusive mono o diglicéridos sintéticos. Además, en la preparación de inyectables también se pueden utilizar ácidos
 40 grasos tales como el ácido oleico. La absorción prolongada de formulaciones inyectables particulares se puede lograr al incluir un agente de retraso de la absorción (por ejemplo, monoestearato de aluminio o gelatina).

Las composiciones farmacéuticas que contienen el ingrediente activo (por ejemplo, complejos de la presente descripción) pueden estar en una forma adecuada para uso oral, por ejemplo, como comprimidos, cápsulas, píldoras,
 45 grageas, suspensiones acuosas u oleosas, polvos o gránulos dispersables, emulsiones, cápsulas duras o blandas, o jarabes, soluciones, microperlas o elixires. Las composiciones farmacéuticas previstas para uso oral se pueden preparar según cualquier procedimiento conocido en la técnica para la fabricación de composiciones farmacéuticas y tales composiciones pueden contener uno o más agentes tales como, por ejemplo, agentes edulcorantes, agentes
 50 saborizantes, agentes colorantes y agentes conservantes para proporcionar preparaciones farmacéuticamente elegantes y agradables. Los comprimidos, cápsulas y similares contienen el ingrediente activo mezclado con excipientes farmacéuticamente aceptables no tóxicos que son adecuados para la fabricación de comprimidos. Estos excipientes pueden ser, por ejemplo, diluyentes, tales como carbonato de calcio, carbonato de sodio, lactosa, fosfato de calcio o fosfato de sodio, agentes desintegrantes y de granulación, por ejemplo, almidón de maíz o ácido algínico, agentes aglutinantes, por ejemplo, almidón, gelatina, o acacia y agentes lubricantes, por ejemplo, estearato de
 55 magnesio, ácido esteárico o talco.

Los comprimidos, cápsulas y similares adecuados para la administración por vía oral pueden no recubrirse o recubrirse mediante técnicas conocidas para retrasar la desintegración y absorción en el tracto gastrointestinal y de ese modo proporcionar una acción sostenida. Por ejemplo, se puede emplear un material de retardo de tiempo tal como el
 60 monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo. También se pueden recubrir mediante técnicas conocidas en la materia para formar comprimidos terapéuticos osmóticos para la liberación controlada. Los agentes adicionales incluyen partículas biodegradables o biocompatibles o una sustancia polimérica tal como poliésteres, ácidos de

poliamina, hidrogel, polivinilpirrolidona, polianhídridos, ácido poliglicólico, etilenvinilacetato, metilcelulosa, carboximetilcelulosa, sulfato de protamina, o lactida/copolímeros de glicólido, copolímeros de polilactida/glicólido, copolímero de etilenvinilacetato para controlar la administración de una composición administrada. Por ejemplo, el agente oral se puede atrapar en microcápsulas preparadas mediante técnicas de coacervación o mediante
5 polimerización interfacial, mediante el uso de microcápsulas de gelatina o hidroximetilcelulosa o microcápsulas de poli(metilmetacrolato), respectivamente, en un sistema de administración de fármacos coloidales. Los sistemas de dispersión coloidal incluyen complejos de macromoléculas, nanocápsulas, microesferas, microperlas y sistemas a base de lípidos, que incluyen emulsiones de aceite en agua, micelas, micelas mezcladas y liposomas. Los procedimientos para preparar liposomas se describen en, por ejemplo, los documentos de patente de EE.UU. n. °
10 4.235.871, 4.501.728, y 4.837.028. Los procedimientos para la preparación de las formulaciones mencionadas anteriormente serán evidentes para los expertos en la materia.

Las formulaciones para uso oral pueden presentarse también como cápsulas de gelatina duras donde el ingrediente activo se mezcla con un diluyente sólido inerte, por ejemplo, carbonato de calcio, fosfato de calcio, caolín o celulosa microcristalina, o como cápsulas de gelatina blandas donde el ingrediente activo se mezcla con agua o un medio oleoso, por ejemplo, aceite de maní, parafina líquida o aceite de oliva.

Las suspensiones acuosas contienen los materiales activos mezclados con excipientes adecuados para la fabricación de los mismos. Tales excipientes pueden ser agentes de suspensión, por ejemplo carboximetilcelulosa de sodio, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, alginato de sodio, polivinilpirrolidona, goma de tragacanto y goma de acacia, y agentes dispersantes o humectantes, por ejemplo un fosfátido de origen natural (por ejemplo, lecitina), o productos de condensación de un óxido de alquileno con ácidos grasos (por ejemplo, polioxietileneestearato), o productos de condensación de óxido de etileno con un alcohol alifático de cadena larga (por ejemplo, heptadecaetileno oxietanol), o productos de condensación de óxido de etileno con ésteres parciales derivados de ácidos grasos y un hexitol (por
20 ejemplo, monooleato de polioxietileno sorbitol), o productos de condensación de óxido de etileno con ésteres parciales derivados de ácidos grasos y anhídridos de hexitol (por ejemplo, monooleato de polietileno sorbitán). Las suspensiones acuosas también pueden contener uno o más conservantes.

Las suspensiones de aceite pueden formularse suspendiendo el ingrediente activo en un aceite vegetal, por ejemplo, el aceite de cacahuete (arachis), el aceite de oliva, el aceite de sésamo o el aceite de coco, o en un aceite mineral tal como la parafina líquida. Las suspensiones oleosas pueden contener un agente espesante, por ejemplo, cera de abejas, parafina dura o alcohol cetílico. Se pueden agregar agentes edulcorantes tales como los establecidos anteriormente, y agentes saborizantes, para proporcionar una preparación oral agradable al paladar.

35 Los polvos y gránulos dispersables adecuados para la preparación de una suspensión acuosa mediante la adición de agua proporcionan el ingrediente activo mezclado con un agente dispersante o humectante, agente de suspensión y uno o más conservantes. Los agentes dispersantes o humectantes y los agentes de suspensión adecuados se ejemplifican en esta invención.

40 Las composiciones farmacéuticas de la presente descripción también pueden estar en forma de emulsiones de aceite en agua. La fase oleosa puede ser un aceite vegetal, por ejemplo, aceite de oliva o aceite de cacahuete (arachis), un aceite mineral, por ejemplo, parafina líquida o mezclas de estos. Los agentes emulsionantes adecuados pueden ser gomas de origen natural, por ejemplo, goma acacia o goma tragacanto; fosfátidos de origen natural, por ejemplo, semillas de soja, lecitina y ésteres o ésteres parciales derivados de ácidos grasos; anhídridos de hexitol, por ejemplo, monooleato de sorbitán; y productos de condensación de los ésteres parciales con óxido de etileno, por ejemplo, monooleato de polioxietileno sorbitán.

Las formulaciones también pueden incluir vehículos para proteger la composición contra la degradación o eliminación rápida del cuerpo, como una formulación de liberación controlada, que incluye implantes, liposomas, hidrogeles, profármacos y sistemas de administración microencapsulados. Por ejemplo, se puede emplear un material de retardo de tiempo tal como monoestearato de glicerilo o estearato de glicerilo solos, o en combinación con una cera.

La presente descripción contempla la administración de los complejos en forma de supositorios para la administración rectal del fármaco. Los supositorios se pueden preparar mezclando el fármaco con un excipiente no irritante adecuado
55 que sea sólido a temperaturas normales, pero líquido a temperatura rectal y, por lo tanto, se disuelve en el recto para liberar el fármaco. Tales materiales incluyen, pero no se limitan a, manteca de cacao y polietilenglicoles.

Los complejos contemplados por la presente descripción pueden estar en forma de cualquier otra composición farmacéutica adecuada (por ejemplo, aerosoles para uso nasal o por inhalación) actualmente conocida o desarrollada
60 en el futuro.

La concentración de un complejo de polipéptidos en una formulación puede variar ampliamente (por ejemplo, de

menos de aproximadamente el 0,1 %, usualmente a o al menos aproximadamente el 2 % a hasta el 20 % al 50 % o más en peso) y usualmente se seleccionarán principalmente en función de los volúmenes de fluido, las viscosidades y los factores basados en el paciente según el modo particular de administración seleccionado.

- 5 En esta invención se contempla el uso de la tecnología de administración en depósito de Nano Precision Medical (Nano Precision Medical; Emeryville, CA). La tecnología utiliza una membrana de nanotubos de titanio que produce velocidad de liberación de orden cero de macromoléculas, tales como terapéuticos de proteínas y péptidos. La membrana biocompatible se aloja en un pequeño implante subcutáneo que proporciona la administración de macromoléculas terapéuticas a velocidad constante a largo plazo (por ejemplo, hasta un año). La tecnología
10 actualmente está siendo evaluada para la administración de agonistas GLP-1 para el tratamiento de diabetes de tipo II. En ciertas realizaciones, los complejos descritos en esta invención pueden ser una formulación con una membrana. Por ejemplo, el complejo puede estar impregnado en la membrana o rodeado por la membrana. La membrana puede tener forma de disco, tubo o esfera. En determinadas realizaciones, el tubo puede ser un nanotubo o la esfera puede ser una nanoesfera.

15

Vías de administración

- La presente descripción contempla la administración de los complejos descritos, y sus composiciones, de cualquier manera apropiada. Las vías de administración adecuadas incluyen la vía parenteral (por ejemplo, intramuscular,
20 intravenosa, subcutánea (por ejemplo, inyección o implante), intraperitoneal, intracisternal, intraarticular, intraperitoneal, intracerebral (intraparenquimal) e intracerebroventricular), oral, nasal, vaginal, sublingual, intraocular, rectal, tópica (por ejemplo, transdérmica), sublingual e inhalación.

- Las inyecciones de depósito, que generalmente se administran por vía subcutánea o intramuscular, también se pueden
25 utilizar para liberar los complejos descritos en esta invención durante un período de tiempo definido. Las inyecciones de depósito usualmente son a base de aceite o sólidos y generalmente comprenden al menos uno de los componentes de la formulación establecida en esta invención. Un experto en la materia está familiarizado con las formulaciones y usos posibles de inyecciones de depósito.

- 30 Con respecto a los anticuerpos, en una realización ejemplar, un anticuerpo o fragmento de anticuerpo de la presente descripción se almacena a 10 mg/ml en solución salina acuosa isotónica estéril para inyección a 4 °C y se diluye en 100 ml o 200 ml de cloruro de sodio al 0,9 % para inyección antes de la administración al sujeto. El anticuerpo se administra mediante infusión intravenosa durante el curso de 1 hora a una dosis de entre 0,2 y 10 mg/kg. En otras realizaciones, el anticuerpo se administra mediante infusión intravenosa durante un período de entre 15 minutos y 2
35 horas. En aun otras realizaciones, el procedimiento de administración es mediante inyección de bolo subcutánea.

- La presente descripción contempla procedimientos donde los complejos de la presente descripción se administran a un sujeto al menos dos veces al día, al menos una vez al día, al menos una vez cada 48 horas, al menos una vez
40 cada 72 horas, al menos una vez a la semana, al menos una vez cada 2 semanas, o una vez al mes.

40

Terapia de combinación

- La presente descripción contempla el uso de un complejo proporcionado en esta invención en combinación con uno o más agentes terapéuticos activos u otras modalidades profilácticas o terapéuticas. En tal terapia de combinación, los
45 diversos agentes activos tienen frecuentemente diferentes mecanismos de acción. Tal terapia de combinación puede ser especialmente ventajosa al permitir una reducción de la dosis de uno o más de los agentes, reduciendo o eliminando de este modo los efectos adversos asociados con uno o más de los agentes; además, tal terapia de combinación puede tener un efecto profiláctico o terapéutico sinérgico en la enfermedad, trastorno o afección subyacente.

50

Como se usa en esta invención, "combinación" pretende incluir terapias que pueden administrarse por separado, por ejemplo, formuladas por separado para una administración separada (por ejemplo, como se puede proporcionar en un kit), y terapias que pueden administrarse juntas en una sola formulación (es decir, una "co-formulación").

- 55 En ciertos casos, un complejo se administra o aplica secuencialmente, por ejemplo, cuando un agente se administra antes que uno o más agentes. En otros casos, el complejo se administra simultáneamente, por ejemplo, cuando dos o más agentes se administran aproximadamente o al mismo tiempo; los dos o más agentes pueden estar presentes en dos o más formulaciones separadas o combinarse en una sola formulación (es decir, una co-formulación). Independientemente de si los dos o más agentes se administran de forma secuencial o simultánea, se considera que
60 son administrados en combinación para los fines de la presente descripción.

Los complejos de la presente descripción se pueden usar en combinación con otros agentes útiles en el tratamiento,

prevención, supresión o mejora de las enfermedades, trastornos o afecciones establecidos en esta invención, incluidos los que normalmente se administran a sujetos que padecen obesidad, trastorno alimentario, hiperglucemia, hiperinsulinemia, intolerancia a la glucosa y otros trastornos del metabolismo de la glucosa.

- 5 La presente descripción contempla la terapia de combinación con numerosos agentes (y clases de los mismos), que incluyen 1) insulina, miméticos de insulina y agentes que implican la estimulación de la secreción de insulina, incluidas sulfonilureas (por ejemplo, clorpropamida, tolazamida, acetohexamida, tolbutamida, gliburida, glimepirida, glipizida) y meglitinidas (por ejemplo, repaglinida (PRANDIN) y nateglinida (STARLIX)); 2) biguanidas (por ejemplo, metformina (GLUCOPHAGE)) y sus sales farmacéuticamente aceptables, en particular, hidrocloreto de metformina, y sus
- 10 formulaciones de liberación prolongada, tal como Glumetza™, Fortamet™ y GlucophageXR™) y otros agentes que actúan promoviendo la utilización de glucosa, reduciendo la producción de glucosa hepática y/o disminuyendo la producción de glucosa intestinal; 3) inhibidores de la alfa-glucosidasa (por ejemplo, acarbosa, voglibosa y miglitol) y otros agentes que ralentizan la digestión de carbohidratos y, en consecuencia, la absorción intestinal y reducen la hiperglucemia postprandial; 4) tiazolidinedionas (por ejemplo, rosiglitazona (AVANDIA), troglitazona (REZULIN),
- 15 pioglitazona (ACTOS), glipizida, balaglitazona, rivoglitazona, netoglitazona, AMG 131, MBX2044, mitoglitazona, lobeglitazona, IDR-105, troglitazona, englitazona, ciglitazona, adaglitazona, darglitazona que mejora la acción de la insulina (por ejemplo, mediante la sensibilización a la insulina) incluyendo insulina y miméticos de la insulina (por ejemplo, insulina degludec, insulina glargina, insulina lispro, insulina detemir, insulina glulisina y formulaciones inhalables de cada uno), promoviendo así la utilización de glucosa en los tejidos periféricos; 5) péptidos similares al
- 20 glucagón, incluidos los inhibidores de DPP-IV (por ejemplo, alogliptina, omarigliptina, linagliptina, vildagliptina (GALVUS) y sitagliptina (JANUVIA)) y péptido similar al glucagón-1 (GLP-1) y agonistas y análogos de GLP-1 (por ejemplo, exenatida (BYETTA e ITCA 650 (una bomba osmótica insertada por vía subcutánea que administra un análogo de exenatida durante un período de 12 meses; Intarcia, Boston, MA)) y agonistas del receptor GLP-1 (por ejemplo, dulaglutida, semaglutida, albiglutida, exenatida, liraglutida, lixisenatida, taspoglutida, CJC-1131 y BIM-51077,
- 25 incluidas sus formulaciones intranasales, transdérmicas y una vez a la semana); 6) y análogos resistentes a DPP-IV (miméticos incretina), agonistas gamma PPAR, agonistas alfa PPAR tales como derivados del ácido fenofibrato (por ejemplo, gemfibrozilo, clofibrato, ciprofibrato, fenofibrato, bezafibrato), agonistas PPAR de doble acción (por ejemplo, ZYH2, ZYH1, GFT505, chiglitazar, muraglitazar, aleglitazar, sodelglitazar y naveglitazar), agonistas de PPAR de acción panorámica, inhibidores de PTP1B (por ejemplo, ISIS-113715 y TTP814), inhibidores de SGLT (por ejemplo, ASP1941,
- 30 SGLT-3, empagliflozin, dapagliflozin, dapagliflozin, canagliflozin , BI-10773, PF-04971729, remogliflozina, TS-071, tofogliflozina, ipragliflozina y LX-4211), secretagogos de insulina, inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (por ejemplo, alacepril, benazepril, captopril, ceronapril, cilazapril, delapril, enalapril, enalaprilat, fosinopril, imidapril, lisinopril, moveltipril, perindopril, quinapril, ramipril, spirapril, temocapril o trandolapril), antagonistas de los receptores de angiotensina II (por ejemplo, losartán, es decir, COZAAR®, valsartán, candesartán, olmesartán,
- 35 telmesartán y cualquiera de estos fármacos utilizados en combinación con hidrocloreto de tiazida tal como HYZAAR®) u otros fármacos antihipertensivos tales como LCZ 696, agonistas de RXR, inhibidores de la glucógeno sintasa quinasa 3, inmunomoduladores, simpaticolíticos, beta bloqueadores adrenérgicos (por ejemplo, propranolol, atenolol, bisoprolol, carvedilol , metoprolol o tartato de metoprolol), fármacos bloqueantes alfa adrenérgicos (por ejemplo, doxazocina, prazosina o alfa metildopa) agonistas alfa adrenérgicos centrales, vasodilatadores periféricos (por ejemplo, hidralazina); agonistas del receptor adrenérgico beta-3, inhibidores de 11beta-HSD1, inhibidores de endopeptidasa neutra (por ejemplo, tiorfano y fosforamidón), antagonistas de la aldosterona, inhibidores de la aldosterona sintasa, inhibidores de la renina (por ejemplo, derivados de urea de di y tri péptidos (véase el documento de patente de EE.UU. n.º 5.116.835), aminoácidos y derivados (patentes de EE.UU. 5.095.119 y 5.104.869), cadenas de aminoácidos unidas por enlaces no peptídicos (patente de EE.UU. 5.114.937), derivados de di y tri-péptidos (patente de EE.UU. 5.106.835),
- 45 peptidil amino dioles (patentes de EE.UU. 5.063.208 y 4.845.079) y peptidil beta-aminoacil aminodiol carbamatos (patente de EE.UU. 5.089.471); también, una variedad de otros análogos de péptidos como se describe a continuación patentes de EE.UU. 5.071.837; 5.064.965; 5.063.207; 5.036.054; 5.036.053; 5.034.512 y 4.894.437, e inhibidores de renina de molécula pequeña (incluyendo diol sulfonamidas y sulfonilos) (patente de EE.UU. 5.098.924), derivados de N-morfolino (patente de EE.UU. 5.055.466), alcoholes N-heterocíclicos (patente de EE.UU. 4.885.292) y
- 50 pirolimidazolonas (patente de EE.UU. 5.075.451); también, derivados de pepstatina (patente de EE.UU. 4.980.283) y derivados de fluoro y cloro de péptidos que contienen estatona (patente de EE.UU. 5.066.643), enalkrein, RO 42-5892, A 65317, CP 80794, ES 1005, ES 8891, SQ 34017, aliskiren (2(S),4(S),5(S),7(S)-N-(2-carbamoyl-2-metilpropil) -5-amino-4-hidroxi-2,7-diisopropil-8- [4-metoxi-3- (3-metoxipropoxi) -fenil] -octanamid hemifumarato) SPP600, SPP630 y SPP635), antagonistas del receptor de endotelina, inhibidores de la fosfodiesterasa-5 (por ejemplo, sildenafil, tadalafil
- 55 y vardenafil), vasodilatadores, bloqueadores de los canales de calcio (por ejemplo, amlodipino, nifedipino, verapamil, diltiazem, gallopamil, niludipino, nimodipinas, nicardipino), activadores de los canales de potasio (por ejemplo, nicorandil, pinacidil, cromakalim, minoxidil, aprilkalim, loprazolam), agentes reductores de lípidos, por ejemplo, inhibidores de la HMG-CoA reductasa tales como simvastatina y lovastatina, que se comercializan como ZOCOR® y MEVACOR® en forma de profármacos de lactona y funcionan como inhibidores después de la administración, y sales
- 60 farmacéuticamente aceptables de inhibidores de la reductasa HMG-CoA de ácido de anillo abierto dihidroxi tales como la atorvastatina (particularmente la sal de calcio vendida en LIPITOR®), rosuvastatina (particularmente la sal de calcio vendida en CRESTOR®), pravastatina (particularmente la sal de sodio vendida en PRAVACHOL®), cerivastatina y

fluvastatina (particularmente la sal de sodio vendida en LESCOL®); un inhibidor de la absorción de colesterol tal como ezetimiba (ZETIA®) y ezetimiba en combinación con cualquier otro agente de reducción de lípidos tal como los inhibidores de la HMG-CoA reductasa mencionados anteriormente y particularmente con simvastatina (VYTORIN®) o con atorvastatina cálcica; fármacos que aumentan el HDL, (por ejemplo, agonistas de los receptores de niacina y ácido nicotínico, y versiones de liberación prolongada o controlada de los mismos, y/o con un inhibidor de la HMG-CoA reductasa; agonistas del receptor de niacina tales como acipimox y acifran, así como agonistas parciales del receptor de niacina; antagonistas del receptor de glucagón (por ejemplo, MK-3577, MK-0893, LY-2409021 y KT6-971); agentes secuestrantes de ácidos biliares (por ejemplo, colestilan, colestimida, clorhidrato de colessevalam, colestipol, colestiramina y derivados de dialquilaminoalquilo de un dextrano reticulado), acilo CoA: inhibidores de colesterol aciltransferasa (por ejemplo, avasimibe); agentes destinados a su uso en afecciones inflamatorias, tales como aspirina, fármacos antiinflamatorios no esteroideos o AINE, glucocorticoides e inhibidores selectivos de la ciclooxigenasa-2 o COX-2; activadores de glucoquinasa (GKA) (por ejemplo, AZD6370); inhibidores de la 11 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa tipo 1 (por ejemplo, como los descritos en la patente de EE.UU. n.º 6.730.690, y LY-2523199); inhibidores de CETP (por ejemplo, anacetrapib, evacetrapib y torcetrapib); inhibidores de la fructosa 1,6-bisfosfatasa (por ejemplo, tal como los descritos en las patentes de EE.UU. n.º 6.054.587; 6.110.903; 6.284.748; 6.399.782; y 6.489.476); inhibidores de acetil CoA carboxilasa-1 o 2 (ACC1 o ACC2); inhibidores de PCSK9; agonistas parciales de GPR-40; moduladores de SCD; inhibidores de la ácido graso sintasa; amilina y análogos de amilina (por ejemplo, pramlintida); incluyendo formas de sal farmacéuticamente aceptables de los agentes activos anteriores donde sea químicamente posible.

Además, la presente descripción contempla la terapia de combinación con agentes y procedimientos para promover la pérdida de peso, tales como agentes que estimulan el metabolismo o disminuyen el apetito, y dietas y/o regímenes de ejercicio modificados para promover la pérdida de peso.

Los complejos de la presente descripción pueden usarse en combinación con uno o más agentes de cualquier manera apropiada bajo las circunstancias. En un caso, el tratamiento con al menos un agente activo y al menos un complejo de la presente descripción se mantiene durante un período de tiempo. En otro caso, el tratamiento con el al menos un agente activo se reduce o interrumpe (por ejemplo, cuando el sujeto está estable), mientras que el tratamiento con un complejo de la presente descripción se mantiene a un régimen de dosificación constante. En otro caso, el tratamiento con al menos un agente activo se reduce o se interrumpe (por ejemplo, cuando el sujeto está estable), mientras que el tratamiento con el(los) complejo(s) de la presente descripción se reduce (por ejemplo, dosis más baja, dosificación menos frecuente o régimen de tratamiento más corto). En otro caso más, el tratamiento con al menos un agente activo se reduce o interrumpe (por ejemplo, cuando el sujeto está estable), y el tratamiento con el complejo de la presente descripción aumenta (por ejemplo, dosis más alta, dosificación más frecuente o régimen de tratamiento más prolongado). En otro caso más, el tratamiento con al menos un agente activo se mantiene y el tratamiento con un complejo de la presente descripción se reduce o interrumpe (por ejemplo, dosis más baja, dosificación menos frecuente o régimen de tratamiento más corto). En otro caso más, el tratamiento con al menos un agente activo y el tratamiento con el(los) complejo(s) de la presente descripción se reduce o interrumpe (por ejemplo, dosis más baja, dosificación menos frecuente o régimen de tratamiento más corto).

Dosificación

Los complejos de la presente descripción pueden administrarse a un sujeto en una cantidad que depende, por ejemplo, del objetivo de la administración (por ejemplo, el grado de resolución deseado); la edad, peso, sexo y estado físico y de salud del sujeto que se va a tratar; la naturaleza del polipéptido y/o la formulación que se administra; la vía de administración; y la naturaleza de la enfermedad, trastorno, afección o síntoma de la misma (por ejemplo, la gravedad de la desregulación de glucosa/insulina y la etapa del trastorno). El régimen de dosificación también puede tener en consideración la existencia, naturaleza y extensión de cualquier efecto adverso asociado con el o los agentes que se administran. Las cantidades de dosificación y regímenes de dosificación eficaces pueden determinarse fácilmente, por ejemplo, a partir de ensayos de seguridad y aumento de dosis, estudios in vivo (por ejemplo, modelos animales) y otros procedimientos conocidos por el experto en la materia.

En general, los parámetros de dosificación dictan que la cantidad de dosificación sea menor que una cantidad que podría ser irreversiblemente tóxica para el sujeto (es decir, la dosis máxima tolerada, "MTD") y no menor que la cantidad requerida para producir un efecto medible en el sujeto. Tales cantidades se determinan, por ejemplo, por los parámetros farmacocinéticos y farmacodinámicos asociados con la absorción, distribución, metabolismo y excreción ("ADME"), teniendo en cuenta la vía de administración y otros factores.

Una dosis efectiva (ED) es la dosis o cantidad de un agente que produce una respuesta terapéutica o efecto deseado en alguna fracción de los sujetos que la toman. La "dosis efectiva media" o ED50 de un agente es la dosis o cantidad de un agente que produce una respuesta terapéutica o efecto deseado en el 50 % de la población a la que se administra. Aunque la ED50 se usa comúnmente como una medida de expectativa razonable del efecto de un agente,

no es necesariamente la dosis que un clínico pueda considerar apropiada teniendo en cuenta todos los factores relevantes. Por lo tanto, en algunas situaciones la cantidad efectiva es más que la ED50 calculada, en otras situaciones la cantidad efectiva es menor que la ED50 calculada, y en aun otras situaciones la cantidad efectiva es la misma que la ED50 calculada.

5

Además, una dosis efectiva de los complejos de la presente descripción puede ser una cantidad que, cuando se administra en una o más dosis a un sujeto, produce un resultado deseado en relación con un sujeto sano. Por ejemplo, una dosis efectiva puede ser una que, cuando se administra a un sujeto que tiene glucosa en plasma y/o insulina elevada en plasma, alcanza una reducción deseada con relación a aquella de un sujeto sano en al menos

10

aproximadamente el 10 %, al menos aproximadamente el 20 %, al menos aproximadamente el 25 %, al menos aproximadamente el 30 %, al menos aproximadamente el 40 %, al menos aproximadamente el 50 %, al menos aproximadamente el 60 %, al menos aproximadamente el 70 %, al menos aproximadamente el 80 %, o más del 80 %.

Un nivel de dosificación apropiado generalmente será de aproximadamente 0,001 a 100 mg/kg de peso corporal del

15

paciente por día, que puede administrarse en dosis únicas o múltiples. En algunas realizaciones, el nivel de dosificación será aproximadamente de 0,01 a aproximadamente 25 mg/kg por día y en otras realizaciones aproximadamente de 0,05 a aproximadamente 10 mg/kg por día. Un nivel de dosificación adecuado puede ser aproximadamente de 0,01 a 25 mg/kg por día, aproximadamente de 0,05 a 10 mg/kg por día o aproximadamente de 0,1 a 5 mg/kg por día. Dentro de este intervalo, la dosificación puede ser de 0,005 a 0,05, 0,05 a 0,5 o 0,5 a 5,0 mg/kg

20

por día.

Para la administración de un agente oral, las composiciones se pueden proporcionar en forma de comprimidos, cápsulas y similares que contienen de 1,0 a 1.000 miligramos del ingrediente activo, particularmente 1,0, 3,0, 5,0, 10,0, 15,0, 20,0, 25,0, 50,0, 75,0, 100,0, 150,0, 200,0, 250,0, 300,0, 400,0, 500,0, 600,0, 750,0, 800,0, 900,0 y 1000,0

25

miligramos del ingrediente activo. El complejo puede administrarse en un régimen de, por ejemplo, 1 a 4 veces por día, y con frecuencia una o dos veces por día.

La dosificación del(de los) complejo(s) de la presente descripción puede repetirse a una frecuencia apropiada, que puede estar en el intervalo de una vez al día a una vez al mes, dependiendo de la farmacocinética del complejo (por

30

ejemplo, vida media) y la respuesta farmacodinámica (por ejemplo, la duración del efecto terapéutico del complejo). En algunas realizaciones, la dosificación se repite con frecuencia entre una vez por semana, una vez cada dos semanas, una vez al mes. En otras realizaciones, el complejo se puede administrar aproximadamente una vez al mes.

En ciertas realizaciones, la dosificación del complejo descrito está contenida en una "forma de dosificación unitaria".

35

40 Kits

La presente descripción contempla también kits que comprenden los complejos descritos y sus composiciones farmacéuticas. Los kits tienen generalmente la forma de una estructura física que aloja varios componentes, como se describe a continuación, y pueden utilizarse, por ejemplo, para practicar los procedimientos descritos anteriormente

45

(por ejemplo, administración de un complejo a un sujeto que necesita reducción de peso).

Un kit puede incluir uno o más de los complejos descritos en esta invención (proporcionados, por ejemplo, en un recipiente estéril), que puede estar en forma de una composición farmacéutica adecuada para la administración a un sujeto. El(los) complejo(s) se pueden proporcionar en una forma que esté lista para su uso o en una forma que requiera,

50

por ejemplo, reconstitución o dilución antes de la administración. Cuando el(los) complejo(s) está(n) en una forma que necesita ser reconstituida por un usuario, el kit también puede incluir amortiguadores, excipientes farmacéuticamente aceptables y similares, envasados con o por separado del(de los) complejo(s). Cuando se contempla la terapia de combinación, el kit puede contener los varios agentes de forma separada o pueden estar ya combinados en el kit. Cada componente del kit puede estar incluido dentro de un recipiente individual y todos los diversos recipientes pueden

55

estar dentro de un solo paquete. Se puede designar un kit de la presente descripción para las condiciones necesarias para mantener de forma apropiada los componentes alojados allí dentro (por ejemplo, refrigeración o congelamiento).

Un kit puede contener una etiqueta o un prospecto que incluya información de identificación de los componentes que contiene e instrucciones para su uso (por ejemplo, parámetros de dosificación, farmacología clínica del ingrediente o

60

ingredientes activos, incluido el mecanismo de acción, farmacocinética y farmacodinámica, efectos adversos, contraindicaciones, etc.). Las etiquetas o prospectos pueden incluir información del fabricante tal como el número de lote y fechas de caducidad. La etiqueta o prospecto puede, por ejemplo, integrarse en la estructura física que aloja los

componentes, contenidos por separado dentro de la estructura física, o fijados a un componente del kit (por ejemplo, una ampolla, tubo o vial). Las instrucciones de ejemplo incluyen aquellas para reducir o disminuir la glucosa en sangre, el tratamiento de hiperglucemia, tratamiento de la diabetes, etc., con los moduladores descritos y las composiciones farmacéuticas de estos.

- 5 Las etiquetas o los prospectos pueden incluir adicionalmente, o incorporarse a, un medio legible por ordenador, tal como un disco (por ejemplo, disco duro, tarjeta, disco de memoria), disco óptico tal como CD- o DVD-ROM/RAM, DVD, MP3, cinta magnética, o un medio de almacenamiento eléctrico tal como RAM y ROM o híbridos de estos tal como medios de almacenamiento magnético/óptico, medios FLASH o tarjetas de memoria. En algunas realizaciones, las
- 10 instrucciones reales no están presentes en el kit, pero se proporcionan los medios para obtener las instrucciones de una fuente remota, por ejemplo, a través de Internet.

EXPERIMENTACIÓN

- 15 Los siguientes ejemplos se exponen para proporcionar a aquellos expertos habituales en la materia una divulgación y descripción completas sobre cómo preparar y usar la presente invención, y no pretenden limitar el alcance de lo que los inventores consideran su invención ni pretenden representar que los experimentos a continuación sean todos o los únicos experimentos realizados. Se han realizado esfuerzos para garantizar la precisión con respecto a los números usados (por ejemplo, cantidades, temperatura, etc.), pero se deben tener en cuenta algunos errores y desviaciones
- 20 experimentales.

- A menos que se indique lo contrario, las partes son partes en peso, el peso molecular es el peso molecular medio, la temperatura se encuentra en grados Celsius (°C) y la presión es igual o cercana a la atmosférica. Se utilizan abreviaturas estándar, incluidas las siguientes: bp = par(es) de base; kb = kilobase(s); pl = picolitro(s); s o seg =
- 25 segundo(s); min = minuto(s); h o hr = hora(s); aa = aminoácido(s); kb = kilobase(s); nt = nucleótido(s); ng = nanogramo; µg = microgramo; mg = miligramo; g = gramo; kg = kilogramo; dl o dL = decilitro; µl o µL = microlitro; ml o mL = mililitro; 1 o L = litro; µM = micromolar; mM = milimolar; M = molar; kDa = kilodalton; i.m. = intramuscular(ly); i.p. = intraperitoneal(ly); s.c. = subcutáneo(mente); bid = dos veces al día; HPLC = cromatografía líquida de alto rendimiento; BW = peso corporal; U = unidad; ns = no estadísticamente significativo; PG = glucosa en plasma en ayunas; FPI =
- 30 insulina en plasma en ayunas; ITT = prueba de tolerancia a la insulina; PTT = prueba de tolerancia al piruvato; oGTT = prueba oral de tolerancia a la glucosa; GSIS = secreción de insulina estimulada por glucosa; PBS = solución salina amortiguada con fosfato; PCR = reacción en cadena de la polimerasa; NHS = N-hidroxisuccinimida; DMEM = Modificación de Dulbecco del medio de Eagle; GC = copia del genoma; EDTA = ácido etilendiaminotetraacético.

35 Materiales y procedimientos

Los siguientes procedimientos y materiales se utilizaron en los siguientes ejemplos:

- Animales.** Los ratones C57BL/6J machos obesos inducidos por la dieta (DIO) (The Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME) se mantuvieron con una dieta alta en grasas (D12492, Research Diets, Inc, New Brunswick, NJ) que contenía 60
- 40 kcal% de grasa, 20 kcal% de proteínas y 20 kcal% de carbohidratos durante 12-20 semanas. Todos los estudios con animales fueron aprobados por el Comité de cuidado y uso de animales institucional NGM. Los ratones DIO C57BL/6J ofrecen un modelo humano de obesidad, donde la obesidad se basa en la ingesta excesiva de calorías. Los ratones C57BL/6J son propensos a la obesidad en los que se observa un aumento de peso pronunciado, así como la
- 45 hiperinsulinemia y, en ocasiones, la hiperglucemia. La cepa es la cepa de ratón más comúnmente utilizada para modelar la obesidad inducida por la dieta. (Nilsson C., y col., Acta Pharmacológica Sínica (2012) 33: 173-181).

- Secuencias de ácidos nucleicos y aminoácidos.** El número de acceso de GenBank BC000529.2 establece el ADNc de ORF que codifica variantes de GDF15 humano, y el número de acceso de GenBank NP_004855.2 establece la
- 50 secuencia de aminoácidos codificada por el ADNc. El ADNc para el socio de Fc-fusion fue comprado en InvivoGen (pFUSE-CHlg-hG1, GenBank: AY623427.1, ID proteína = AAT49050) y modificado como se indica. La secuencia de aminoácidos del socio Fc-fusion codificada por el vector pFUSE-CHlg-hG1 es:

DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP
APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN
NYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
(SEQ ID NO: 55)

Construcción de construcciones de expresión. El vector de expresión de mamíferos pTT5 (Consejo de Investigación Nacional de Canadá) fue modificado mediante la inserción de un elemento de Kozak y una secuencia de péptido de señal de IgK humana:

(CACCATGGACATGAGGGTCCCCGCTCAGCTCCTGGGGCTCCTGCTACTCTGGCTCCG AGGTGCCAGATGT)

- 5 (SEQ ID NO: 56) entre el sitio PmeI y EcoRI. Aunque se eliminaron ambos sitios de restricción, se creó un sitio AgeI para una mayor clonación en el marco de factores secretados. Para la inserción de fragmento único (por ejemplo, la porción de Fc de la IgG1 humana), se utilizó la tecnología In-Fusion (Clontech). Para la inserción de dos o más fragmentos generados por PCR (es decir, hlgG1-Fc + GDF15) se utilizó Gibson Assembly Master Mix (NEB) según los protocolos de los fabricantes. Todos los fragmentos de PCR fueron amplificados por mezcla de PCR Sapphire y
- 10 gel purificado mediante el uso del kit Qiagen Gel Extraction. Las células electrocompetentes TOP10 (Life Technologies) se transformaron con reacciones de clonación, se colocaron en placas de agar LB que contenían carbenicilina y se incubaron durante la noche a 37 °C. Las colonias individuales se recogieron y se analizaron por secuenciación. El ADN de las colonias positivas se amplificó (DNA-Maxi-prep, Qiagen), se confirmó completamente la secuencia y se usó para transfectar células de mamífero para la expresión de proteínas recombinantes.

- 15 Para crear muteínas específicas, mutagénesis dirigida al sitio se realizó con QuikChange Lightning o QuikChange Lightning Multi Site-Directed Mutagenesis Kits (Agilent) y cebadores apropiados, siguiendo los protocolos de los fabricantes.

- 20 **Molécula de fusión (Fc/Fc)-GDF15, GDF15 de tipo salvaje, y expresión de glicomuteína GDF15.** Todas las moléculas se recuperaron de transfectadas transitoriamente en células Expi 293F (Invitrogen Corporation, Carlsbad, CA). Las células se subcultivaron rutinariamente en medio de expresión Expi (Invitrogen) y se mantuvieron como cultivos en suspensión en matraces de agitación de diferentes tamaños. Típicamente, las células se subcultivaron a una densidad celular de 5e5 células viables/ml y se cultivaron durante 3 días antes del subcultivo. Los matraces se
- 25 mantuvieron en una incubadora de CO₂ humidificada (37 °C y 5 % de CO₂) en plataformas de agitador de New Brunswick (New Brunswick Scientific Company, Edison, NJ) a una velocidad de agitación de 110 RPM.

- Las transfecciones se realizaron cuando la densidad celular del cultivo alcanzó 2,5e6 células viables/ml con una viabilidad mayor del 95 %. Típicamente, para una transfección de 50 ml, se inocularon 2,5e6 células/mL x 50 mL de
- 30 células en un matraz agitador de 250 mL en un volumen de cultivo de 42,5 mL. Cincuenta microgramos (50 µg) de ADN plasmídico que consiste en el vector de expresión que contiene el gen de interés se diluyó primero en 2,5 mL de medio de suero reducido OPTI-MEM (Invitrogen). Simultáneamente, el reactivo de transfección Expifectamine (Invitrogen), 2,67 veces el volumen (de la cantidad de ADN plasmídico) también se diluyó en 2,5 mL de medio de suero reducido OPTI-MEM. Después de una incubación de 5 minutos a temperatura ambiente, el reactivo de transfección
- 35 diluido se añadió lentamente al ADN plasmídico diluido para formar complejos competentes de transfección. Después de un período adicional de incubación de 20 minutos a temperatura ambiente, se añadieron 5 mL del complejo de transfección al cultivo celular de 42,5 mL. Las células transfectadas se colocaron, a continuación, en la incubadora de CO₂ humidificada en un agitador orbital mantenido a 110 RPM. Veinticuatro horas después de la transfección, el cultivo transfectado se alimentó con 250 µl de solución potenciadora 1 (Invitrogen) y 2,5 ml de solución potenciadora 2
- 40 (Invitrogen). El cultivo se reemplazó, a continuación, en la incubadora de CO₂ humidificada en un agitador orbital. De seis a siete días después de la transfección, los cultivos se cosecharon por centrifugación a 3000 RPM durante 30 minutos antes de filtrarse a través de un filtro de 0,2 µm (Nalgene). Las muestras se analizaron, a continuación, en un gel teñido con Commassie para determinar la expresión.

- 45 **Purificación de proteína recombinante.** Las moléculas (Fc/Fc)-GDF15 expresadas en medio acondicionado (CM) se evaluaron para la recuperación y la actividad después de la purificación. CM se hizo pasar sobre la columna de mAb SelectSuRe (GE) a una capacidad de carga de no más de 20 mg/mL de resina. Los volúmenes de CM oscilaron entre 50mL-1000mL para la evaluación de las recuperaciones. Después de la carga de mAb SelectSuRe de CM, la columna se lavó con 5-10 volúmenes de columna de 1X PBS (Corning Cellgro) seguido de la elución por etapas con
- 50 amortiguador de glicina de pH bajo (Polysciences Inc). Después de la elución, los grupos (Fc/Fc)-GDF15 se neutralizaron con pH con Tris 1 M pH 8.0 (Teknova) y, a continuación, se inyectaron en una columna Superdex200 (GE) pre-equilibrada en 1XPBS (Corning Cellgro). Las fracciones de (Fc/Fc)-GDF15 intactas, moléculas completamente ensambladas se agruparon y se evaluó su pureza y se cuantificaron mediante procedimientos A280 utilizando el coeficiente de extinción apropiado y pesos moleculares para determinar la recuperación sobre la base de
- 55 volúmenes iniciales de CM. Las moléculas totalmente ensambladas eran un complejo dímero-dímero de dos heterodímeros. Cada heterodímero tiene un Fc asociado con glicomuteína Fc-GDF15 a través de la interacción botón en ojal, y dos heterodímeros asociados a través de la interacción GDF15 - GDF15.

- Purificación de glicomuteínas WT GDF15 y GDF15.** GDF15 de tipo salvaje y las glicomuteínas GDF15 no
- 60 conjugadas con Fc se purificaron a partir de medios de cultivo utilizando la captura de intercambio iónico. Las glicomuteínas de WT GDF15 y GDF15 se eluyeron usando un gradiente de sal/pH apropiado para una elución y separación óptimas de las impurezas de proteínas de la célula huésped. Todas las moléculas de GDF15 se purificaron,

a continuación, mediante el uso de GE HiTrap Phenyl HP con un pH 8.0 usando un gradiente lineal decreciente de sulfato de amonio. Las fracciones se evaluaron y se agruparon con base en la pureza y las propiedades de glicosilación mediante cambio de gel en geles de SDS-PAGE no reducidos. Similar a las moléculas (Fc/Fc)-GDF15, el GDF15 de tipo salvaje y las glicomutinas GDF15 se expresaron usando el péptido señal de IgK.

5

Ejemplo 1: diseño de moléculas de fusión heterodiméricas de botón en ojal (Fc/Fc)-GDF15

Los diseños de Fc-GDF15 se describen en la figura 1 y secuencias primarias se representan a continuación (construcciones B1a/b-B19a/b). Para lograr el ensamblaje productivo de las moléculas Fc-GDF15, se diseñó un sistema eficiente para permitir la dimerización de Fc/Fc mientras se permite la dimerización de GDF15 / GDF15. Para evitar el potencial de plegamiento erróneo y agregación de Fc-GDF15 de cadena única, se diseñó un socio de fusión heterodimérico para la interacción Fc/Fc para permitir la homodimerización de GDF15/GDF15 de alta fidelidad. Los heterodímeros Fc/Fc de botón en ojal se diseñaron para abordar el ensamblaje y secreción GDF15 de los sistemas transitorios Expi 293F. Los sistemas heterodiméricos de botón en ojal Fc/Fc se evaluaron utilizando un sistema [T366Y (botón) // Y407T (ojal)] o [T366W (botón) // T366S-L368A-Y407V (ojal)], junto con un enlazador $(G_4S)_n$ ($n = 2, 3, 4$ o 5) y GDF15. Cabe señalar que la numeración de la posición de aminoácidos en el dominio CH3 de Fc se basa en el sistema de numeración de la UE (Edelman, G.M. y col., Proc. Natl. Acad. EE.UU., 63, 78-85 (1969)). En todos los casos, el socio de Fc-fusión (botón/ojal) se acopló al extremo N del GDF15 maduro que comprende los residuos de aminoácidos A1-I112, R2-I112, N3-I112, G4-I112, D5-I112, H6-I112, o C7-I112. Truncamientos del extremo N de GDF15 ($\Delta 1=R2-I112$, $\Delta 2=N3-I112$, $\Delta 3=G4-I112$, $\Delta 4=D5-I112$, $\Delta 5=H6-I112$, o $\Delta 6=C7-I112$) fueron incorporados para la mejora de la estabilidad como la secuencia en el extremo N (ARNGDH, SEQ ID NO: 95) ha sido previamente demostrada como un sitio de susceptibilidad proteolítica y los truncamientos de extremo proporcionan una estabilidad superior vs. GDF15 que no incluye estos truncamientos de extremo N.

Las figuras 1A-1D describen la colocación del botón vs. ojal en el Fc-GDF15 (cadena A), acoplado con el ojal vs. botón correspondiente en el socio Fc heterodimérico (cadena B), acoplado con ya sea una bisagra IgG de tipo salvaje que contiene dos enlaces disulfuro intermoleculares o sin el dominio bisagra (Δ bisagra). Para las cadenas A/B del botón u ojal heterodimérico de Fc, una mutación AA (AP E L L GGP (SEQ ID NO: 96) \rightarrow AP A L A GGP (SEQ ID NO: 97)) se introdujo para la eliminación de la funcionalidad efectora IgG1. Los diseños de botón en ojal heterodiméricos de (Fc/Fc)-GDF15 fueron perfilados de expresión para el ensamblaje y se presentan en la figura 2A. En todos los casos, la expresión transitoria de botón en ojal (Fc / Fc) -GDF15 resultó en recuperaciones, después de la purificación, entre 0 mg/L y 74,9 mg/L de producto correctamente ensamblado (0 = agregados/sin expresión, < 25 mg/L, 25 mg/L-49,9 mg/L, 50 mg/L-74,9 mg/L, 75 mg/L-99,0 mg/L, >100 mg/L). En todos los casos, el ensamblaje y la secreción de las moléculas Fc/Fc-GDF15 heterodiméricas botón en ojal fueron acompañados con varios niveles de contaminante de especies homodiméricas mal plegadas tales como Fc(ojal):Fc(ojal), Fc(botón):Fc(botón), Fc(botón)-GDF15:Fc(botón)-GDF15 y Fc(ojal)-GDF15:Fc(ojal)-GDF15. Sobre la base de perfiles de expresión, T366W (botón) colocado en la cadena de Fc-GDF15, acoplado con T366S-L368A-Y407V (ojal) en la cadena de socio heterodimérica Fc (figura 1D) se encontró para producir un producto con una estabilidad máxima y un emparejamiento incorrecto minimizado de productos Fc/Fc-homodiméricos (figura 2A - variante B5a/B5b). Este diseño fue el enfoque de optimización y diseño de expresión adicionales.

La recuperación de B5a/B5b de variante de la fuente Expi 293F expresada transitoriamente proporcionó recuperaciones en el intervalo de 0,0 mg/L a 24,9 mg/L. Para mejorar la expresión, ensamblaje y recuperaciones, sitios de N-glicosilación se introdujeron dentro de la secuencia madura de GDF15 (figura 1F). En las construcciones diseñadas, la presencia de un único sitio de consenso de glicano de enlace-N en GDF15 mejoró significativamente la expresión, el ensamblaje y la recuperación del heterodímero de botón en ojal completamente maduro (Fc/Fc)-GDF15 B5a/B5b (figura 2A - variantes B9a/B9b a B19a/B19b). Se encontró que la longitud del enlazador que es óptima cuando $n=5$ para $(G_4S)_n$ para la unión al receptor y la actividad mediante un ensayo in vitro. La presencia de un glicano en la posición D5T elimina por completo un sitio de desamidación primaria en la posición N3 de GDF15 maduro y aparece para mejorar aún más la estabilidad de la molécula como se evidencia en el Ejemplo 2.

Se propone la presencia de glicanos de enlace-N dentro de la secuencia de GDF15 para ayudar a la expresión y minimizar la acumulación de productos mal plegados debido al aumento del tiempo de residencia en el retículo endoplásmico y el aparato de Golgi durante el proceso secretor. Este tiempo de residencia adicional se propone para tener un efecto beneficioso sobre la cinética de plegamiento para un emparejamiento de botón en ojal (Fc-Fc) heterodimérico significativamente mejorado y recuperaciones de cultivo de tejidos de mamíferos.

Las secuencias de las variantes (B1a/b-B19a/b) se proporcionan a continuación. En las secuencias representadas a continuación, el péptido de señal de IgK humana está en minúsculas seguido por la secuencia de Fc. En las secuencias que incluyen también la secuencia de enlazador y GDF15, la secuencia de Fc es seguida por la secuencia de enlazador (subrayada) que es seguida por la secuencia GDF15 (en negrita). La numeración de la posición de las sustituciones de aminoácidos en la secuencia de Fc se basa en la numeración de la UE, las sustituciones con referencia al

aminoácido presente en la posición correspondiente en IgGIFc humano (SEQ ID NO: 2). La numeración de la eliminación de N-terminal en la secuencia GDF15 y la sustitución de aminoácidos(s) es con referencia al GDF15 maduro humano de tipo salvaje (SEQ ID NO: 1).

5 B1a: hlgK-hlgG1-Fc(AA)(T366Y)(G₄S)₅-ΔN3-GDF15 (G4-I112)

mdmrvp aql l g l l l l w l r g a r c D K T H T C P P C P A P A L A G G P S V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V
T C V V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N
G K E Y K C K V S N K A L P A I E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R E E M T K N Q V S L Y C L V K G F Y P
S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L
H N H Y T Q K S L S L S P G K G G G G S G G G G S G G G G S G G G G S G G G G S **G D H C P L G P G R C C R L H T**
V R A S L E D L G W A D W V L S P R E V Q V T M C I G A C P S Q F R A A N M H A Q I K T S L H R L K P D T V P
A P C C V P A S Y N P M V L I O K T D T G V S L O T Y D D L L A K D C H C I (SEQ ID NO: 57)

B1b: hlgK-hlgG1-Fc(AA)(Y407T)

10 mdmrvpaqlglillwlgarcDKTHTCPPCPAPALAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV
TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN
GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPS
DIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLT**TS**KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH
NHYTOKSLSLSPGK (SEO ID NO: 58)

B2a: hlgK-hlgG1-Fc(AA)(Y407T)-(G₄S)₅-ΔN3-GDF15 (G4-I112)

mdmrvpaqlglilllwlrgarcDKTHTCPPCPAPALAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV
TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN
GKEYCKKVSNKALPAIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPS
DIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDS DGSFFLT SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH
NHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGDHCP LGPGRCCRLHTV
RASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVPA
PCCVPASYNPMVLIOKTDTGVSLOTYDDLAKDCHCI (SEQ ID NO: 59)

B2b: hlgK-hlgG1-Fc(AA)(T366Y)

20 mdmrvpaqllgllllwlgarcDKTHTCPPCPAPALAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV
TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN
GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLYCLVKGFYP
SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDSGFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEAL
HNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 60)

B3a: hlgK-hlgG1-Fc(Δ bisagra,AA)(T366Y)-(G₄S)₅- Δ N3-GDF15 (G4-I112)

mdmrvaqllglillwlgarcAPALAGGGSVFLFPPKPKDTLMISRTPVTCVVVDVSH
EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV
NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLYCLVKGFYPSDIAVEWESN
GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLS
LSPGKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSG**GDHCPLGPGRCCRLHTVRASLEDLG**
WADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTPVAPCCVPASY
NPMVLIOKTDTGVSLQTYDDLAKDCHCI (SEQ ID NO: 61)

B3b: hlgK-hlgG1-Fc(Δ bisagra,AA)(Y407T)

mdmrvaqllgllllwlgarcAPALAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH
EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV
NKALPAPIEKTKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN
GQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLTSKLTVDKSRWQQGNVFSQVMHEALHNHYTQKSLS
LSPGK (SEQ ID NO: 62)

B4a: hlgK-hlgG1-Fc(Δ bisagra,AA)(Y407T)-(G₄S)₅- Δ N3-GDF15 (G4-I112)

mdmrvaqllgllllwlgarcAPALAGGPSVFLFPPKPKD~~TL~~MISRTPEVTCVVVDVSH
EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV
NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN
GQPENNYKTTTPVLDS~~DG~~SFFLTSKLTVDKSRWQQGNV~~F~~SCSVMHEALHNHYTQKSLS
LSPGKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGDHCPLGPGRCCRLHTVRASLEDLG
WADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTPAPCCVPASY
NPMVLIOKTDTGVSL~~OT~~YDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO: 63)

B4b: hlgK-hlgG1-Fc(Δ bisagra,AA)(T366Y)

mdmrvaqllgllllwlgarcAPALAGGPSVFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSH
EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV
NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLYCLVKGFYPSDIAVEWESN
GQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSFSVMHEALHNHYTQKSLS
LSPGK (SEQ ID NO: 64)

B5a: hlgK-hlgG1-Fc(AA)(T366W)-(G₄S)₅-ΔN3-GDF15 (G4-I112)

mdmrvpaqlglillwlgarcDKTHTCPPCPAPALAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV
TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN
GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLWCLVKGFYP
SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL
HNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGDHCPLGPGRCRLHT
VRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTPV
APCCVPASYNPMVLIQKTDTGVS**LQTYDDLLAKDCHCI** (SEQ ID NO: 65)

B5b: hlgK-hlgG1-Fc(AA)(T366S)(L368A)(Y407V)

mdmrvpaqllgllllwlgarcDKTHTCPPCPAPALAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV
TCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN
GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPS
DIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSQVMHEALH
NHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 66)

B6a: hlgK-hlgG1-Fc(AA)(T366S)(L368A)(Y407V)-(G₄S)₅-ΔN6-GDF15 (C7-I112)

mdmrvpaqllgllllwlgarcDKTHTCPPCPAALAGGSPVFLFPKPCKDTLMISRTPEV
TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL
NKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPS
DIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSEFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSQVMHEALH
NHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGCPLGPGRCRRLHTVRA
SL
EDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTPAPCCV
PASYNPMVLIQKTDGTGVSLOTYDDLAKDCHCI (SEQ ID NO: 67)

B6b: hlgK-hlgG1-Fc(AA)(T366W)

mdmrvaqllgllllwlgarcDKTHTCPPCPAPALAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV
TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN
GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLWCLVKGFYP
SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL
HNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 68)

B7a: hlgK-hlgG1-Fc(Δ bisagra,AA)(T366W)-(G₄S)₅- Δ N3-GDF15 (G4-I112)

mdmrpvaqllgllllwlgarcAPALAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH
EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV
NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWES
NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL
SLSPGKGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSG**GDHCPLGPGRCCRLHTVRASLEDLG**
WADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTPAPCCVPASY
NPMVLIQKTDGTGVSLQTYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO: 69)

B7b: hlgK-hlsG1-Fc(Δ bisagra AA)(T366S)(L368A)(Y407V)

mdmrvpaqlglillwlgarcAPALAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH
EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV
NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESN
GQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS
LSPGK (SEQ ID NO: 70)

B8a: hlgK-hlgG1-Fc(Δ b,AA)(T366S)(L368A)(Y407V)-(G₄S)₅- Δ N6-GDF15 (C7-I112)

mdmrvaqllgllllwlgarcAPALAGGPSVFLFPPKPKD~~TL~~MSRTP~~EV~~TCVVVDVSH
EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV
NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYP~~SD~~IAVEWESN
GQPENNYK~~TT~~PPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNV~~F~~SCSV~~M~~HEALHNHYTQKSLS
LSPGKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSCPLGPGRC~~CRL~~HTVRASLEDLGWAD
WVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPD~~TV~~PAPCCVPASYNPM
VLIQKTD~~TG~~VSLQTYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO: 71)

B8b: hlgK-hlgG1-Fc(Δ b,AA)(T366W)

mdmrvpaqllgllllwlgarcAPALAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSH
EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV
NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWES
NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL
SLSPGK (SEQ ID NO: 72)

B9a: hlgK-hlgG1-Fc(AA)(T366W)-(G₄S)₃-GDF15 (A1-I112)(D5T)

mdmrvpaqlglglllwlrgarcDKTHTCPPCPAPALAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV
TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN
GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLWCLVKGFYP
SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEAL
HNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGGSGGGGSARNGTHCPLGPGRCCRLHTVRASLED
LGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCCVPA
SYNPMVLIQKTDGTGVSLSQTYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO: 73)

B9b: hlgK-hlgG1-Fc(AA)(T366S)(L368A)(Y407V)

mdmrvpaqlglglllwlrgarcDKTHTCPPCPAPALAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV
TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN
GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPS
DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALH
5 NHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 74)

B10a: hlgK-hlgG1-Fc(AA)(T366W)-(G4S)₄-GDF15 (A1-I112)(D5T)

mdmrvpaqlglglllwlrgarcDKTHTCPPCPAPALAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV
TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN
GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLWCLVKGFYP
SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEAL
10 HNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGGSARNGTHCPLGPGRCCRLHTVR
ASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAP
CCVPASYNPMVLIQKTDGTGVSLSQTYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO: 75)

B10b: hlgK-hlgG1-Fc(AA)(T366S)(L368A)(Y407V)

mdmrvpaqlglglllwlrgarcDKTHTCPPCPAPALAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV
TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN
GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPS
DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALH
15 NHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 76)

B11a: hlgK-hlgG1-Fc(AA)(T366W)-(G4S)₅-GDF15(A1-I112)(D5T)

mdmrvpaqlglglllwlrgarcDKTHTCPPCPAPALAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV
TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN
GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLWCLVKGFYP
SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEAL
HNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGARNGTHCPLGPGRCCR
LHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPD
TVPAPCCVPASYNPMVLIQKTDGTGVSQTYYDLLAKDCHCI (SEQ ID NO: 77)

B11b: hlgK-hlgG1-Fc(AA)(T366S)(L368A)(Y407V)

mdmrvpaqlglglllwlrgarcDKTHTCPPCPAPALAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV
TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN
GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPS
DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALH
NHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 76)

5

B12a: hlgK-hlgG1-Fc(AA)(T366W)-(G₄S)₂-ΔN2-GDF15(N3-I112)(D5T)

mdmrvpaqlglglllwlrgarcDKTHTCPPCPAPALAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV
TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN
GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLWCLVKGFYP
SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEAL
HNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGNGTHCPLGPGRCCRLHTVRASLEDLGWADW
VLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTPVAPCCVPASYNPMVL
IQKTDGTGVSQTYYDLLAKDCHCI (SEQ ID NO: 78)

10

B12b: hlgK-hlgG1-Fc(AA)(T366S)(L368A)(Y407V)

mdmrvpaqlglglllwlrgarcDKTHTCPPCPAPALAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV
TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN
GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPS
DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALH
NHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 79)

15

B13a: hlgK-hlgG1-Fc(AA)(T366W)-(G₄S)₂-ΔN2-GDF15(N3-I112)(D5T)

**mdmrvpaqlglilllwlrgarcDKTHTCPPCPAPALAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV
TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN
GKEYKCKVSNKALPAIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLWCLVKGFYP
SDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL
HNHYTQKSLSLSPGKGGGGGGGGGGGGGSNGTHCPLGPGRCCRLH
TVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTV
PAPCCVPASNPMVLIQKTDTGVSLQTYDDLLAKDCHCI** (SEQ ID NO: 80)

B13b: hlgK-hlgG1-Fc(AA)(T366S)(L368A)(Y407V)

mdmrvpaqlglillwlgarcDKTHTCPPCPAPALAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV
TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN
GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPS
DIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH
NHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 81)

B14a: hlgK-hlgG1-Fc(AA)(T366W)-(G4S)₅-ΔN3-GDF15 (G4-I112)(R21N)

mdmrvpqllgllllwlgarcDKTHTCPPCPAPALAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV
TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN
GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLWCLVKGFYP
SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL
HNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGDHCPLGPGRCRLHT
VNASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVP
APCCVPASYNPMVLIQKTDGTGVSLOTYDDLAKDCHCI (SEQ ID NO: 82)

B14b: hlgK-hlgG1-Fc(AA)(T366S)(L368A)(Y407V)

mdmrvaqlglglwlgarcDKTHTCPPCPAPALAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV
TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN
GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPS
DIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALH
NHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 83)

B15a: hlgK-hlgG1-Fc(AA)(T366W)-(G₄S)₅-ΔN3-GDF15(G4-I112)(S23N/E25T)

mdmrvpaqllgllllwlgarcDKTHTCPPCPAPALAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV
TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN
GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLWCLVKGFYP
SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL
HNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGDHCPLGPGRCCRLHT
VRANLTDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTPV
APCCVPASYNPMVLIQKTDGTGVSLSQTYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO: 84)

B15b: hlgK-hlgG1-Fc(AA)(T366S)(L368A)(Y407V)

mdmrvpaqlglillwlgarcDKTHTCPPCPAPALAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV
TCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN
GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPS
DIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSQVMHEALH
NHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 85)

B16a: hlgK-hlgG1-Fc(AA)(T366W)-(G₄S)₅-ΔN3-GDF15(G4-I112)(F52N/A54T)

mdmrvpaqllgllllwlgarcDKTHTCPPCPAPALAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV
TCVVDVDSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN
GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLWCLVKGFYP
SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEAL
HNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGDHCPLGPGRCRLHT
VRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQNRTANMHAQIKTSLHRLKPDTVP
APCCVPASYNPMVLIQKTDGTGVSLQTYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO: 86)

B16b: hlgK-hlgG1-Fc(AA)(T366S)(L368A)(Y407V)

mdmrvpaqllgllllwlrgrarcDKTHTCPPCPAPALAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV
TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL
NKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPS
DIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSQVMHEALH
NHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 87)

B17a: hlgK-hlgG1-Fc(AA)(T366W)-(G₄S)₅-ΔN3-GDF15 (G4-I112)(R53N/A55T)

mdmrvpaqlglilllwlrgarcDKTHTCPPCPAPALAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV
TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN
GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLWCLVKGFYP
SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL
HNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGDHCPLGPGRCRLHT
VRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFNATNMHAQIKTSLHRLKPDTVP
APCCVPASYNPMVLIQKTDTGVS**LQTYDDLLAKDCHCI** (SEQ ID NO: 88)

B17b: hlgK-hlgG1-Fc(AA)(T366S)(L368A)(Y407V)

mdmrvpaqllgllllwlgarcDKTHTCPPCPAPALAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV
TCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN
GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPS
DIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSQVMHEALH
NHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 89)

B18a: hlgK-hlgG1-Fc(AA)(T366W)-(G4S)₅-ΔN3-GDF15 (G4-I112)(K91N/D93T)

mdmrvpaqllgllllwlgarcDKTHTCPPCPAPALAGGPSVFLFPKPKDTLMISRTPEV
TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN
GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLWCLVKGFYP
SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL
HNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGDHCPLGPGRCRLHT
VRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVP
APCCVPASYNPMVLIQNNTTGTGVSLOTYDDLAKDCHCI (SEQ ID NO: 90)

B18b: hlgK-hlgG1-Fc(AA)(T366S)(L368A)(Y407V)

mdmrvpaqlglglllwlrgarcDKTHTCPPCPAPALAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV
TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL
N
GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPS
DIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALH
NHYTOKSLSLSPGK (SEO ID NO: 91)

B19a: hlgK-hlgG1-Fc(AA)(T366W)-(G₄S)₅-ΔN3-GDF15(G4-I112)(D93N/G95T)

mdmrvp aqlgl lllwlgarcDKTHTCPPCPA~~PALAGG~~PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV
TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL
N GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLWCLVKGFYP
SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL
HNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS**GDHCPLGPGRCCRLHT**
VRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTPV
APCCVPASYNPMVLIOKTNTTVSLOTYDDLAKDCHCI (SEQ ID NO: 92)

B19b: hlgK-hlgG1-Fc(AA)(T366S)(L368A)(Y407V)

mdmrvaqlglglwlgarcDKTHTCPPCPAPALAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV
TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL
NKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPS
DIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDSGFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFS
SVMHEALH
NHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 93)

Las secuencias de GDF15 maduro humano de tipo salvaje (SEQ ID NO: 1) y glicomutefnas de GDF15 enumeradas en la figura 2B son las siguientes:

10 GDF15 maduro humano de tipo salvaje IgK

mdmrvaqllgllllwlgarcARNGDHCPLGPGRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSP
REVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTPAPCCVPASYNPMVLIQKTDTG
VSLQTYDDLLAKDCHCI (SEO ID NO: 108)

IgK-GDF15-glicomutaina R21N

mdmrvpaqlglglllwlrgarcARNGDHCPLGPGRCCRLHTVNASLEDLGWADWVLS
REVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTPAPCCVPASYNPMVLIQKTDG
VSLQTYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO: 109)

IgK-GDF15-glicomuteína R53N/A55T

mdmrvaqllglillwlgarcARNGDHCPLGPGRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSP
REVQVTMCIGACPSQFNATNMHAQIKTSLHRLKPDTPAPCCVPASYNPMVLIQKTDTG
VSLQTYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO: 110)

IgK-GDF15-glicomutaina S64N/H66T

mdmrvpaqllgllllwlgarcARNGDHCPLGPGRCCLHTVRASLEDLGWADWVLSP
REVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTNLTRLKPDTPAPCCVPASYNPMVLIQKTDTG
VSLQTYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO: 111)

IgK-GDF15-glicomutaina P70N

mdmrvpaqllgllllwlgarcARNGDHCPLGPGRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSP
REVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKNDTVPAPCCVPASYNPMVLIQKTDG
GVSLQTYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO: 112)

IgK-GDF15-glicomuteína Q90N

mdmrvpaqllgllllwlgarcARNGDHCPLGPGRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSP
REVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCCVPASYNPMVLIQKTDG
5 VSLQTYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO: 113)

IgK-GDF15-glicomuteína K91N/D93T

mdmrvpaqllgllllwlgarcARNGDHCPLGPGRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSP
REVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCCVPASYNPMVLIQNTTTG
10 VSLQTYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO: 114)

IgK-GDF15-glicomuteína D93N/G95T

mdmrvpaqllgllllwlgarcARNGDHCPLGPGRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSP
REVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCCVPASYNPMVLIQKNTTT
15 VSLQTYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO: 115)

IgK-GDF15-glicomuteína G95N

mdmrvpaqllgllllwlgarcARNGDHCPLGPGRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSP
REVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCCVPASYNPMVLIQKTDG
20 VSLQTYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO: 116)

IgK-GDF15-glicomuteína S97N/Q99T

mdmrvpaqllgllllwlgarcARNGDHCPLGPGRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSP
REVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCCVPASYNPMVLIQKTDG
25 VNLTTYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO: 117)

IgK-GDF15-glicomuteína L98N

mdmrvpaqllgllllwlgarcARNGDHCPLGPGRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSP
REVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCCVPASYNPMVLIQKTDG
30 VSNQTYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO: 118)

Las moléculas de GDF15 se expresaron usando el péptido de señal de IgK, que se escinde del polipéptido secretado por una peptidasa de señal expresada por las células 293. La recuperación del GDF15 maduro humano de tipo salvaje (SEQ ID NO: 1) y las glicomuteínas GDF15 se enumeran en la figura 2B.

Se describen glicomuteínas GDF15 ejemplares que pueden expresarse como Fc-Fc(botón/ojal)GDF15 glicomuteínas en el documento USSN 14/811.578 depositado el 28 de julio de 2015.

Ejemplo 2: Efectos de las moléculas de fusión (Fc / Fc) -GDF15 sobre el peso corporal y la ingesta de alimentos en el modelo de ratón DIO

Los efectos de una molécula de fusión administrada por vía subcutánea que tiene un heterodímero Fc- recombinante

- fusionado a GDF15 humano recombinante (es decir, un complejo de dos heterodímeros, teniendo cada heterodímero un polipéptido Fc dimerizado con un polipéptido de glicomutina Fc-GDF15) sobre el peso corporal se evaluaron durante un período de 35 días. Brevemente, las moléculas de fusión B9a/B9b, B11a/B11b y B13a/B13b se administraron semanalmente durante 21 días en dosis de 0,4 nmol/kg y 4 nmol/kg como una sola inyección en bolo subcutánea (10 mL/kg) a ratones DIO con peso aproximado de 35-40 g. Después de la administración de control del vehículo o las moléculas de fusión, la reducción de peso corporal se controló en diversos puntos de tiempo durante un período de tiempo de 35 días que comprendía 21 días de dosificación de proteína seguidos de un lavado de 14 días (post-dosis) para controlar la eficacia.
- 10 Como se representa en las figuras 3-6, la administración de las moléculas de fusión Fc (complejo de heterodímero-heterodímero) a una dosis de 0,4 nmol/kg y 4 nmol/kg resultó en una reducción significativa del peso corporal. En cada grupo de ratones, n = 6 y valores p (*, p < 0,05; **, p < 0,01; ***, p < 0,001, ns=no significativo) se determinaron mediante la prueba T independiente del estudiante en comparación con el grupo de control del vehículo en cada punto de tiempo especificado. Como se representa en la figura 7, el peso corporal total con el análisis SEM se muestra en cada muestreo de punto de tiempo para todos los grupos.
- 15 Como se representa en la figura 8, los cambios en el peso corporal (g) con el análisis SEM y los valores p se muestran en cada muestreo de punto de tiempo para todos los grupos. Como se representa en la figura 9, los cambios porcentuales en el peso corporal (%) con el análisis SEM y los valores p se muestran en cada muestreo de punto de tiempo para todos los grupos.
- 20 Como se representa en las figuras 3 y 5, hay una mayor eficacia observada en la reducción de peso corporal para B13a/B13b en comparación con B9a/B9b y B11a/B11b en el estudio de dosis de 0,4 nmol/kg. El aumento de la eficacia in vivo para B 13a/B 13b se atribuye a una estabilidad mejorada debido al truncamiento de los residuos de 2 N-terminal de GDF15 (Δ AR).

25 LISTADO DE SECUENCIAS

<110> NGM BIOPHARMACEUTICALS, Inc. Shen, Wenyan Lindhout, Darrin A. Haldankar, Raj Matern, Hugo

<120> COMPOSICIONES Y PROCEDIMIENTOS DE USO PARA EL TRATAMIENTO DE TRASTORNOS
30 METABÓLICOS

<130> NGMB-142WO

<150> US 62/073.737

35 <151> 31/10/2014

<150> US 62/244.604

<151> 21/10/2015

40 <160> 136

<170> PatentIn versión 3.5

<210> 1

45 <211> 112

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

50

ES 2 799 503 T3

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg
1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp
20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys
35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser
50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro
65 70 75 80

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

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
100 105 110

<210> 2

<211> 232

5 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

ES 2 799 503 T3

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
1 5 10 15

Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
20 25 30

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
35 40 45

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
50 55 60

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
65 70 75 80

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
85 90 95

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
100 105 110

Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
115 120 125

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr
130 135 140

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
145 150 155 160

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
165 170 175

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
180 185 190

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
195 200 205

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
210 215 220

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
225 230

<210> 3

<211> 347

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia de polipéptido sintético

10

ES 2 799 503 T3

<400> 3

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Ala Leu Ala Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

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

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

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

Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

ES 2 799 503 T3

Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asn Gly Thr
225 230 235 240

His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr Val Arg
245 250 255

Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser Pro Arg
260 265 270

Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln Phe Arg
275 280 285

Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg Leu Lys
290 295 300

Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro
305 310 315 320

Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser Leu Gln Thr Tyr
325 330 335

Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
340 345

<210> 4

<211> 227

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia de polipéptido sintético

10

<400> 4

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Ala Leu Ala Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

ES 2 799 503 T3

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

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

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

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

Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 5

<211> 362

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia de polipéptido sintético

10

<400> 5

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Ala Leu Ala Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val

ES 2 799 503 T3

50					55						60						
His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr		
65					70					75					80		
Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly		
				85					90					95			
Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile		
			100					105					110				
Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val		
		115					120					125					
Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser		
130						135					140						
Leu	Trp	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu		
145					150				155						160		
Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro		
				165					170					175			
Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val		
			180					185					190				
Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met		
		195					200					205					
His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser		
210					215						220						
Pro	Gly	Lys	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly		
225					230					235					240		
Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Asn	Gly	Thr	His		
				245					250					255			
Cys	Pro	Leu	Gly	Pro	Gly	Arg	Cys	Cys	Arg	Leu	His	Thr	Val	Arg	Ala		
			260					265					270				
Ser	Leu	Glu	Asp	Leu	Gly	Trp	Ala	Asp	Trp	Val	Leu	Ser	Pro	Arg	Glu		
		275					280					285					
Val	Gln	Val	Thr	Met	Cys	Ile	Gly	Ala	Cys	Pro	Ser	Gln	Phe	Arg	Ala		
290					295					300							

ES 2 799 503 T3

Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg Leu Lys Pro
305 310 315 320

Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met
325 330 335

Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp
340 345 350

Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
355 360

<210> 6

<211> 227

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia de polipéptido sintético

10

<400> 6

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Ala Leu Ala Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

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

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

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

Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu

ES 2 799 503 T3

145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 7

<211> 361

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia de polipéptido sintético

10

<400> 7

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Ala Leu Ala Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

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

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

ES 2 799 503 T3

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

Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
225 230 235 240

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Asp His Cys
245 250 255

Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr Val Asn Ala Ser
260 265 270

Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser Pro Arg Glu Val
275 280 285

Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala
290 295 300

Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg Leu Lys Pro Asp
305 310 315 320

Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val
325 330 335

Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp
340 345 350

Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
355 360

<210> 8

<211> 227

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia de polipéptido sintético

ES 2 799 503 T3

<400> 8

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Ala Leu Ala Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

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

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

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

Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys

5 225

<210> 9

<211> 361

<212> PRT

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia de polipéptido sintético

ES 2 799 503 T3

<400> 9

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Ala Leu Ala Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

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

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

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

Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

5

ES 2 799 503 T3

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
225 230 235 240

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Asp His Cys
245 250 255

Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr Val Arg Ala Asn
260 265 270

Leu Thr Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser Pro Arg Glu Val
275 280 285

Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala
290 295 300

Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg Leu Lys Pro Asp
305 310 315 320

Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val
325 330 335

Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp
340 345 350

Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
355 360

<210> 10

<211> 227

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia de polipéptido sintético

10

<400> 10

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Ala Leu Ala Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

ES 2 799 503 T3

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

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

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

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

Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 11

<211> 361

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia de polipéptido sintético

10

<400> 11

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Ala Leu Ala Gly

ES 2 799 503 T3

1		5						10					15			
Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	
		20						25					30			
Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	
		35					40					45				
Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	
	50					55					60					
His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	
65					70					75					80	
Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	
				85					90					95		
Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	
			100					105					110			
Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	
		115					120					125				
Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	
	130					135					140					
Leu	Trp	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	
145					150					155					160	
Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	
			165						170					175		
Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	
		180						185					190			
Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	
		195					200					205				
His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	
	210				215						220					
Pro	Gly	Lys	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	
225					230					235					240	
Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Asp	His	Cys	
			245					250						255		

ES 2 799 503 T3

Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr Val Arg Ala Ser
260 265 270

Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser Pro Arg Glu Val
275 280 285

Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln Asn Arg Thr Ala
290 295 300

Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg Leu Lys Pro Asp
305 310 315 320

Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val
325 330 335

Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp
340 345 350

Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
355 360

<210> 12

<211> 227

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia de polipéptido sintético

10

<400> 12

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Ala Leu Ala Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile

ES 2 799 503 T3

100

105

110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

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

Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 13

<211> 361

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia de polipéptido sintético

10

<400> 13

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Ala Leu Ala Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

ES 2 799 503 T3

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
 85 90 95
 Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
 100 105 110
 Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 115 120 125
 Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
 130 135 140
 Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
 145 150 155 160
 Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 165 170 175
 Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
 180 185 190
 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 195 200 205
 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 210 215 220
 Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
 225 230 235 240
 Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Asp His Cys
 245 250 255
 Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr Val Arg Ala Ser
 260 265 270
 Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser Pro Arg Glu Val
 275 280 285
 Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln Phe Asn Ala Thr
 290 295 300
 Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg Leu Lys Pro Asp
 305 310 315 320
 Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val

ES 2 799 503 T3

	325		330		335
	Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp				
	340		345		350
	Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile				
	355		360		
	<210> 14				
	<211> 227				
5	<212> PRT				
	<213> Secuencia artificial				
	<220>				
	<223> secuencia de polipéptido sintético				
10	<400> 14				
	Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Ala Leu Ala Gly				
	1	5	10		15
	Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met				
	20		25		30
	Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His				
	35		40		45
	Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val				
	50		55		60
	His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr				
	65	70		75	80
	Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly				
	85		90		95
	Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile				
	100		105		110
	Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val				
	115		120		125
	Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser				
	130		135		140
	Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu				
	145	150		155	160
	Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro				
	165		170		175

ES 2 799 503 T3

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 15

<211> 361

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia de polipéptido sintético

10

<400> 15

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Ala Leu Ala Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

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

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

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

ES 2 799 503 T3

Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
225 230 235 240

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Asp His Cys
245 250 255

Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr Val Arg Ala Ser
260 265 270

Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser Pro Arg Glu Val
275 280 285

Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala
290 295 300

Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg Leu Lys Pro Asp
305 310 315 320

Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val
325 330 335

Leu Ile Gln Asn Thr Thr Thr Gly Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp
340 345 350

Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
355 360

<210> 16

<211> 227

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia de polipéptido sintético

10

<400> 16

ES 2 799 503 T3

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Ala Leu Ala Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

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

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

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

Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 17

<211> 361

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia de polipéptido sintético

ES 2 799 503 T3

<400> 17

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Ala Leu Ala Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

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

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

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

Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

ES 2 799 503 T3

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
225 230 235 240

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Asp His Cys
245 250 255

Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr Val Arg Ala Ser
260 265 270

Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser Pro Arg Glu Val
275 280 285

Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala
290 295 300

Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg Leu Lys Pro Asp
305 310 315 320

Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val
325 330 335

Leu Ile Gln Lys Thr Asn Thr Thr Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp
340 345 350

Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
355 360

<210> 18

<211> 227

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia de polipéptido sintético

10

<400> 18

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Ala Leu Ala Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val

ES 2 799 503 T3

50

55

60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

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

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

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

Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 19

<211> 4

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia de polipéptido sintético

10

<400> 19

Gly Gly Gly Ser

1

15 <210> 20

<211> 5

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20 <220>

<223> secuencia de polipéptido sintético

<400> 20

Gly Gly Gly Gly Ser
1 5

5 <210> 21
<211> 4
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> secuencia de polipéptido sintético

<400> 21

15 Gly Gly Ser Gly
1

<210> 22
<211> 5
20 <212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> secuencia de polipéptido sintético

25 <400> 22

Gly Gly Ser Gly Gly
1 5

30 <210> 23
<211> 5
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

35 <220>
<223> secuencia de polipéptido sintético

<400> 23

Gly Ser Gly Ser Gly
1 5

40 <210> 24
<211> 5
<212> PRT
45 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> secuencia de polipéptido sintético

50 <400> 24

Gly Ser Gly Gly Gly
1 5

<210> 25
55 <211> 5
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
 <223> secuencia de polipéptido sintético

5 <400> 25

Gly Gly Gly Ser Gly
 1 5

<210> 26
 10 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 15 <223> secuencia de polipéptido sintético

<400> 26

Gly Ser Ser Ser Gly
 1 5

20 <210> 27
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223> secuencia de polipéptido sintético

<400> 27

30 Gly Gly Gly Gly Gly
 1 5

<210> 28
 <211> 5
 35 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> secuencia de polipéptido sintético

40 <400> 28

Glu Gly Gly Gly Ser
 1 5

45 <210> 29
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

50 <220>
 <223> secuencia de polipéptido sintético

<220>
 <221> MISC_FEATURE

55 <222> (2)..(3)
 <223> el aminoácido en esta posición puede ser cualquier aminoácido

<220>
 <221> MISC_FEATURE

 <222> (4)..(4)
 5 <223> el aminoácido en esta posición puede ser cualquier aminoácido hidrófobo

 <400> 29

 Pro Xaa Xaa Xaa
 1
 10
 <210> 30
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 15
 <220>
 <223> secuencia de polipéptido sintético

 <220>
 20 <221> MISC_FEATURE

 <222> (2)..(3)
 <223> el aminoácido en esta posición puede ser cualquier aminoácido

 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE

 <222> (4)..(4)
 <223> el aminoácido en esta posición puede ser cualquier aminoácido hidrófobo
 30
 <220>
 <221> MISC_FEATURE

 <222> (5)..(5)
 35 <223> el aminoácido en esta posición puede ser cualquier Ser o Thr

 <400> 30

 Pro Xaa Xaa Xaa Xaa
 1 5
 40
 <210> 31
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 45
 <220>
 <223> secuencia de polipéptido sintético

 <220>
 50 <221> MISC_FEATURE

 <222> (2)..(2)
 <223> el aminoácido en esta posición puede ser Leu o Gln

 55 <400> 31

 Pro Xaa Gly Met Thr Ser
 1 5

 <210> 32

<211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 5 <220>
 <223> secuencia de polipéptido sintético
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 10 <222> (2)..(2)
 <223> el aminoácido en esta posición puede ser Leu o Gln
 <400> 32
 15 Pro Xaa Gly Met Thr
 1 5
 <210> 33
 <211> 10
 20 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> secuencia de polipéptido sintético
 25 <400> 33
 Cys Gly Leu Val Pro Ala Gly Ser Gly Pro
 1 5 10
 30 <210> 34
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 35 <220>
 <223> secuencia de polipéptido sintética
 <400> 34
 Ser Leu Leu Lys Ser Arg Met Val Pro Asn Phe Asn
 40 1 5 10
 <210> 35
 <211> 12
 <212> PRT
 45 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> secuencia de polipéptido sintética
 50 <400> 35
 Ser Leu Leu Ile Ala Arg Arg Met Pro Asn Phe Asn
 1 5 10
 <210> 36
 55 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> secuencia de polipéptido sintética

<400> 36

5 Ser Lys Leu Val Gln Ala Ser Ala Ser Gly Val Asn
 1 5 10

<210> 37
 <211> 12
 10 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> secuencia de polipéptido sintética

15 <400> 37

Ser Ser Tyr Leu Lys Ala Ser Asp Ala Pro Asp Asn
 1 5 10

20 <210> 38
 <211> 12
 <212> **PRT**
 <213> **Secuencia** artificial

25 <220>
 <223> secuencia de polipéptido sintética

<400> 38

Arg Pro Lys Pro Gln Gln Phe Phe Gly Leu Met Asn
 30 1 5 10

<210> 39
 <211> 12
 <212> PRT
 35 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> secuencia de polipéptido sintética

40 <400> 39

Ser Leu Arg Pro Leu Ala Leu Trp Arg Ser Phe Asn
 1 5 10

<210> 40
 45 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 50 <223> secuencia de polipéptido sintética

<400> 40

Ser Pro Gln Gly Ile Ala Gly Gln Arg Asn Phe Asn
 1 5 10

55 <210> 41
 <211> 14

<212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 5 <223> secuencia de polipéptido sintética

<400> 41

	Asp	Val	Asp	Glu	Arg	Asp	Val	Arg	Gly	Phe	Ala	Ser	Phe	Leu
	1				5					10				

10 <210> 42
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223> secuencia de polipéptido sintética

<400> 42

20

	Ser	Leu	Pro	Leu	Gly	Leu	Trp	Ala	Pro	Asn	Phe	Asn
	1				5					10		

<210> 43
 <211> 12

25 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> secuencia de polipéptido sintética

30 <400> 43

	Ser	Leu	Leu	Ile	Phe	Arg	Ser	Trp	Ala	Asn	Phe	Asn
	1				5					10		

35 <210> 44
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> secuencia de polipéptido sintética

<400> 44

	Ser	Gly	Val	Val	Ile	Ala	Thr	Val	Ile	Val	Ile	Thr
45	1				5					10		

<210> 45
 <211> 12
 <212> PRT

50 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> secuencia de polipéptido sintética

55 <400> 45

	Ser	Leu	Gly	Pro	Gln	Gly	Ile	Trp	Gly	Gln	Phe	Asn
	1				5					10		

<210> 46
 <211> 12
 <212> PRT
 5 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> secuencia de polipéptido sintética

 10 <400> 46

 Lys Lys Ser Pro Gly Arg Val Val Gly Gly Ser Val
 1 5 10

 <210> 47
 15 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 20 <223> secuencia de polipéptido sintética

 <400> 47

 Pro Gln Gly Leu Leu Gly Ala Pro Gly Ile Leu Gly
 1 5 10
 25
 <210> 48
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 30
 <220>
 <223> secuencia de polipéptido sintética

 <400> 48
 35
 Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Ile Glu Gly Arg
 1 5 10

 <210> 49
 <211> 12
 40 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> secuencia de polipéptido sintética
 45
 <400> 49

 Gly Pro Gln Gly Leu Ala Gly Gln Arg Gly Ile Val
 1 5 10

 50 <210> 50
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 55 <220>
 <223> secuencia de polipéptido sintética

 <400> 50

Gly Gly Ser Gly Gln Arg Gly Arg Lys Ala Leu Glu
1 5 10

<210> 51
5 <211> 12
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
10 <223> secuencia de polipéptido sintética

<400> 51

Ser Leu Ser Ala Leu Leu Ser Ser Asp Ile Phe Asn
1 5 10

15 <210> 52
<211> 12
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> secuencia de polipéptido sintética

<400> 52

25 Ser Leu Pro Arg Phe Lys Ile Ile Gly Gly Phe Asn
1 5 10

<210> 53
<211> 12
30 <212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> secuencia de polipéptido sintética

35 <400> 53

Ser Leu Leu Gly Ile Ala Val Pro Gly Asn Phe Asn
1 5 10

40 <210> 54
<211> 12
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45 <220>
<223> secuencia de polipéptido sintética

<400> 54

Phe Phe Lys Asn Ile Val Thr Pro Arg Thr Pro Pro
50 1 5 10

<210> 55
<211> 227
<212> PRT
55 <213> Homo sapiens

<400> 55

ES 2 799 503 T3

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

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

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

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

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

5

<210> 56

<211> 69

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

10

<220>

ES 2 799 503 T3

<223> secuencia de polipéptido sintética

<400> 56

accatggaca tgaggggtccc cgctcagctc ctgggggtccc tgctactctg gctccgaggt 60

5 gccagatgt 69

<210> 57

<211> 383

<212> PRT

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia de polipéptido sintética

15 <400> 57

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

Leu	Arg	Gly	Ala	Arg	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro
			20					25					30		

Ala	Pro	Ala	Leu	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys
		35					40					45			

ES 2 799 503 T3

Pro 50	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile 55	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu 60	Val	Thr	Cys	Val
Val 65	Val	Asp	Val	Ser	His 70	Glu	Asp	Pro	Glu	Val 75	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr 80
Val	Asp	Gly	Val	Glu 85	Val	His	Asn	Ala	Lys 90	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu 95	Glu
Gln	Tyr	Asn	Ser 100	Thr	Tyr	Arg	Val	Val 105	Ser	Val	Leu	Thr	Val 110	Leu	His
Gln	Asp	Trp 115	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu 120	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val 125	Ser	Asn	Lys
Ala 130	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu 135	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys 140	Ala	Lys	Gly	Gln
Pro 145	Arg	Glu	Pro	Gln	Val 150	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro 155	Ser	Arg	Glu	Glu	Met 160
Thr	Lys	Asn	Gln 165	Val	Ser	Leu	Tyr	Cys	Leu 170	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr 175	Pro
Ser	Asp	Ile 180	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser 185	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu 190	Asn	Asn
Tyr	Lys	Thr 195	Thr	Pro	Pro	Val	Leu 200	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser 205	Phe	Phe	Leu
Tyr 210	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp 215	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln 220	Gln	Gly	Asn	Val
Phe 225	Ser	Cys	Ser	Val	Met 230	His	Glu	Ala	Leu	His 235	Asn	His	Tyr	Thr	Gln 240
Lys	Ser	Leu	Ser 245	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys	Gly 250	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly 255	Gly
Gly	Gly	Ser 260	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly 265	Gly	Gly	Gly	Ser 270	Gly	Gly	Gly
Gly	Ser 275	Gly	Asp	His	Cys	Pro	Leu 280	Gly	Pro	Gly	Arg 285	Cys	Cys	Arg	Leu
His 290	Thr	Val	Arg	Ala	Ser	Leu 295	Glu	Asp	Leu	Gly 300	Trp	Ala	Asp	Trp	Val

ES 2 799 503 T3

Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro
305 310 315 320

Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu
325 330 335

His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala
340 345 350

Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser
355 360 365

Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
370 375 380

<210> 58

<211> 249

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia de polipéptido sintética

10

<400> 58

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

Leu Arg Gly Ala Arg Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
20 25 30

Ala Pro Ala Leu Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
35 40 45

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
50 55 60

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
65 70 75 80

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
85 90 95

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
100 105 110

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
115 120 125

ES 2 799 503 T3

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
130 135 140

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
145 150 155 160

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
165 170 175

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
180 185 190

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
195 200 205

Thr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
210 215 220

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
225 230 235 240

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
245

<210> 59

<211> 383

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia de polipéptido sintética

10

<400> 59

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

Leu Arg Gly Ala Arg Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
20 25 30

Ala Pro Ala Leu Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
35 40 45

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
50 55 60

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
65 70 75 80

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu

ES 2 799 503 T3

85								90				95				
Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	
			100					105					110			
Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	
		115					120					125				
Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	
		130					135					140				
Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	
145					150					155					160	
Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	
				165					170					175		
Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	
			180					185					190			
Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	
		195					200					205				
Thr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	
		210					215					220				
Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	
225					230					235					240	
Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	
				245					250					255		
Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	
			260					265					270			
Gly	Ser	Gly	Asp	His	Cys	Pro	Leu	Gly	Pro	Gly	Arg	Cys	Cys	Arg	Leu	
		275					280					285				
His	Thr	Val	Arg	Ala	Ser	Leu	Glu	Asp	Leu	Gly	Trp	Ala	Asp	Trp	Val	
		290					295					300				
Leu	Ser	Pro	Arg	Glu	Val	Gln	Val	Thr	Met	Cys	Ile	Gly	Ala	Cys	Pro	
305					310					315					320	
Ser	Gln	Phe	Arg	Ala	Ala	Asn	Met	His	Ala	Gln	Ile	Lys	Thr	Ser	Leu	
				325					330					335		

ES 2 799 503 T3

His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala
340 345 350

Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser
355 360 365

Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
370 375 380

<210> 60

<211> 249

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia de polipéptido sintética

10

<400> 60

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

Leu Arg Gly Ala Arg Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
20 25 30

Ala Pro Ala Leu Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
35 40 45

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
50 55 60

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
65 70 75 80

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
85 90 95

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
100 105 110

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
115 120 125

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
130 135 140

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
145 150 155 160

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Tyr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro

ES 2 799 503 T3

165

170

175

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
180 185 190

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
195 200 205

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
210 215 220

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
225 230 235 240

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
245

<210> 61

<211> 373

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia de polipéptido sintética

10

<400> 61

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

Leu Arg Gly Ala Arg Cys Ala Pro Ala Leu Ala Gly Gly Pro Ser Val
20 25 30

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
35 40 45

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
50 55 60

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
65 70 75 80

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
85 90 95

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
100 105 110

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

ES 2 799 503 T3

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
 130 135 140
 Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Tyr Cys Leu
 145 150 155 160
 Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
 165 170 175
 Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
 180 185 190
 Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
 195 200 205
 Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
 210 215 220
 His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Gly
 225 230 235 240
 Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 245 250 255
 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro
 260 265 270
 Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu
 275 280 285
 Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met
 290 295 300
 Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala
 305 310 315 320
 Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala
 325 330 335
 Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys
 340 345 350
 Thr Asp Thr Gly Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys
 355 360 365
 Asp Cys His Cys Ile
 370

5 <210> 62
 <211> 239

<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>

5 <223> secuencia de polipéptido sintética

<400> 62

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

Leu Arg Gly Ala Arg Cys Ala Pro Ala Leu Ala Gly Gly Pro Ser Val
20 25 30

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
35 40 45

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
50 55 60

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
65 70 75 80

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
85 90 95

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
100 105 110

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

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
130 135 140

Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
145 150 155 160

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
165 170 175

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
180 185 190

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Thr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
195 200 205

10

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
210 215 220

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
225 230 235

<210> 63

<211> 373
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <223> secuencia de polipéptido sintética

<400> 63

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

Leu Arg Gly Ala Arg Cys Ala Pro Ala Leu Ala Gly Gly Pro Ser Val
 20 25 30

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
 35 40 45

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
 50 55 60

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
 65 70 75 80

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
 85 90 95

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
 100 105 110

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

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
 130 135 140

Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
 145 150 155 160

10 Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
 165 170 175

ES 2 799 503 T3

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
180 185 190

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Thr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
195 200 205

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
210 215 220

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Gly
225 230 235 240

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
245 250 255

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro
260 265 270

Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu
275 280 285

Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met
290 295 300

Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala
305 310 315 320

Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala
325 330 335

Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys
340 345 350

Thr Asp Thr Gly Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys
355 360 365

Asp Cys His Cys Ile
370

<210> 64

<211> 239

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia de polipéptido sintética

10

<400> 64

ES 2 799 503 T3

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

Leu Arg Gly Ala Arg Cys Ala Pro Ala Leu Ala Gly Gly Pro Ser Val
20 25 30

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
35 40 45

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
50 55 60

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
65 70 75 80

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
85 90 95

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
100 105 110

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

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
130 135 140

Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Tyr Cys Leu
145 150 155 160

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
165 170 175

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
180 185 190

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
195 200 205

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
210 215 220

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
225 230 235

<210> 65

<211> 383

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia de polipéptido sintética

ES 2 799 503 T3

<400> 65

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

Leu Arg Gly Ala Arg Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
20 25 30

Ala Pro Ala Leu Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
35 40 45

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
50 55 60

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
65 70 75 80

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
85 90 95

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
100 105 110

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
115 120 125

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
130 135 140

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
145 150 155 160

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
165 170 175

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
180 185 190

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
195 200 205

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
210 215 220

ES 2 799 503 T3

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
225 230 235 240

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
245 250 255

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
260 265 270

Gly Ser Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu
275 280 285

His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val
290 295 300

Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro
305 310 315 320

Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu
325 330 335

His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala
340 345 350

Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser
355 360 365

Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
370 375 380

<210> 66

<211> 249

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia de polipéptido sintética

10

<400> 66

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

Leu Arg Gly Ala Arg Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
20 25 30

Ala Pro Ala Leu Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
35 40 45

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val

ES 2 799 503 T3

50

55

60

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
65 70 75 80

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
85 90 95

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
100 105 110

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
115 120 125

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
130 135 140

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
145 150 155 160

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro
165 170 175

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
180 185 190

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
195 200 205

Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
210 215 220

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
225 230 235 240

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
245

<210> 67

<211> 380

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia de polipéptido sintética

10

<400> 67

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

ES 2 799 503 T3

Leu Arg Gly Ala Arg Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
 20 25 30
 Ala Pro Ala Leu Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
 35 40 45
 Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 50 55 60
 Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 65 70 75 80
 Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 85 90 95
 Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 100 105 110
 Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 115 120 125
 Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 130 135 140
 Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
 145 150 155 160
 Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 165 170 175
 Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 180 185 190
 Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 195 200 205
 Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 210 215 220
 Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 225 230 235 240
 Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 245 250 255
 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

ES 2 799 503 T3

260

265

270

Gly Ser Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr Val
275 280 285

Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser Pro
290 295 300

Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln Phe
305 310 315 320

Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg Leu
325 330 335

Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn
340 345 350

Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser Leu Gln Thr
355 360 365

Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
370 375 380

<210> 68

<211> 249

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia de polipéptido sintética

10

<400> 68

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

Leu Arg Gly Ala Arg Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
20 25 30

Ala Pro Ala Leu Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
35 40 45

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
50 55 60

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
65 70 75 80

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
85 90 95

ES 2 799 503 T3

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
100 105 110

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
115 120 125

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
130 135 140

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
145 150 155 160

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
165 170 175

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
180 185 190

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
195 200 205

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
210 215 220

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
225 230 235 240

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
245

<210> 69

<211> 373

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia de polipéptido sintética

10

<400> 69

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

Leu Arg Gly Ala Arg Cys Ala Pro Ala Leu Ala Gly Gly Pro Ser Val
20 25 30

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
35 40 45

ES 2 799 503 T3

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
 50 55 60
 Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
 65 70 75 80
 Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
 85 90 95
 Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
 100 105 110
 Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
 115 120 125
 Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
 130 135 140
 Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu
 145 150 155 160
 Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
 165 170 175
 Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
 180 185 190
 Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
 195 200 205
 Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
 210 215 220
 His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Gly
 225 230 235 240
 Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 245 250 255
 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro
 260 265 270
 Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu
 275 280 285
 Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met
 290 295 300

ES 2 799 503 T3

Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala
305 310 315 320

Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala
325 330 335

Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys
340 345 350

Thr Asp Thr Gly Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys
355 360 365

Asp Cys His Cys Ile
370

<210> 70

<211> 239

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia de polipéptido sintética

10

<400> 70

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

Leu Arg Gly Ala Arg Cys Ala Pro Ala Leu Ala Gly Gly Pro Ser Val
20 25 30

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
35 40 45

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
50 55 60

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
65 70 75 80

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
85 90 95

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
100 105 110

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

ES 2 799 503 T3

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
130 135 140

Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala
145 150 155 160

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
165 170 175

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
180 185 190

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
195 200 205

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
210 215 220

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
225 230 235

<210> 71

<211> 370

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia de polipéptido sintética

10

<400> 71

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

Leu Arg Gly Ala Arg Cys Ala Pro Ala Leu Ala Gly Gly Pro Ser Val
20 25 30

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
35 40 45

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
50 55 60

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
65 70 75 80

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
85 90 95

ES 2 799 503 T3

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
 100 105 110
 Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
 115 120 125
 Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
 130 135 140
 Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala
 145 150 155 160
 Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
 165 170 175
 Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
 180 185 190
 Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
 195 200 205
 Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
 210 215 220
 His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Gly
 225 230 235 240
 Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 245 250 255
 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys
 260 265 270
 Cys Arg Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala
 275 280 285
 Asp Trp Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly
 290 295 300
 Ala Cys Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys
 305 310 315 320
 Thr Ser Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys
 325 330 335
 Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr
 340 345 350
 Gly Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His
 355 360 365
 Cys Ile
 370

<210> 72

<211> 239

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia de polipéptido sintética

10 <400> 72

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

Leu Arg Gly Ala Arg Cys Ala Pro Ala Leu Ala Gly Gly Pro Ser Val
20 25 30

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
35 40 45

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
50 55 60

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
65 70 75 80

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
85 90 95

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
100 105 110

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

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
130 135 140

Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu
145 150 155 160

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
165 170 175

ES 2 799 503 T3

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
180 185 190

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
195 200 205

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
210 215 220

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
225 230 235

<210> 73

<211> 376

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia de polipéptido sintética

10

<400> 73

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

Leu Arg Gly Ala Arg Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
20 25 30

Ala Pro Ala Leu Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
35 40 45

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
50 55 60

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
65 70 75 80

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
85 90 95

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
100 105 110

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
115 120 125

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
130 135 140

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met

ES 2 799 503 T3

145		150		155		160									
Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Trp	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro
			165						170					175	
Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn
			180						185					190	
Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu
		195					200					205			
Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val
	210					215					220				
Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln
225					230					235					240
Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly
				245					250					255	
Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Ala	Arg	Asn	Gly	Thr	His	Cys	Pro
			260					265					270		
Leu	Gly	Pro	Gly	Arg	Cys	Cys	Arg	Leu	His	Thr	Val	Arg	Ala	Ser	Leu
		275					280					285			
Glu	Asp	Leu	Gly	Trp	Ala	Asp	Trp	Val	Leu	Ser	Pro	Arg	Glu	Val	Gln
	290					295					300				
Val	Thr	Met	Cys	Ile	Gly	Ala	Cys	Pro	Ser	Gln	Phe	Arg	Ala	Ala	Asn
305					310					315					320
Met	His	Ala	Gln	Ile	Lys	Thr	Ser	Leu	His	Arg	Leu	Lys	Pro	Asp	Thr
				325					330					335	
Val	Pro	Ala	Pro	Cys	Cys	Val	Pro	Ala	Ser	Tyr	Asn	Pro	Met	Val	Leu
			340					345					350		
Ile	Gln	Lys	Thr	Asp	Thr	Gly	Val	Ser	Leu	Gln	Thr	Tyr	Asp	Asp	Leu
		355					360					365			
Leu	Ala	Lys	Asp	Cys	His	Cys	Ile								
	370					375									

<210> 74

<211> 249

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia de polipéptido sintética

10

<400> 74

ES 2 799 503 T3

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

Leu Arg Gly Ala Arg Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
20 25 30

Ala Pro Ala Leu Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
35 40 45

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
50 55 60

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
65 70 75 80

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
85 90 95

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
100 105 110

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
115 120 125

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
130 135 140

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
145 150 155 160

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro
165 170 175

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
180 185 190

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
195 200 205

Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
210 215 220

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
225 230 235 240

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
245

5

<210> 75
<211> 381

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

5 <223> secuencia de polipéptido sintética

<400> 75

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

Leu Arg Gly Ala Arg Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
20 25 30

Ala Pro Ala Leu Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
35 40 45

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
50 55 60

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
65 70 75 80

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
85 90 95

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
100 105 110

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
115 120 125

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
130 135 140

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
145 150 155 160

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
165 170 175

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
180 185 190

10

ES 2 799 503 T3

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
195 200 205

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
210 215 220

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
225 230 235 240

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
245 250 255

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Arg Asn
260 265 270

Gly Thr His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr
275 280 285

Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser
290 295 300

Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln
305 310 315 320

Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg
325 330 335

Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr
340 345 350

Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser Leu Gln
355 360 365

Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
370 375 380

<210> 76

<211> 249

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia de polipéptido sintética

10

<400> 76

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

ES 2 799 503 T3

Leu Arg Gly Ala Arg Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
 20 25 30
 Ala Pro Ala Leu Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
 35 40 45
 Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 50 55 60
 Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 65 70 75 80
 Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 85 90 95
 Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 100 105 110
 Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 115 120 125
 Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 130 135 140
 Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
 145 150 155 160
 Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 165 170 175
 Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 180 185 190
 Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 195 200 205
 Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 210 215 220
 Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 225 230 235 240
 Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 245

<210> 77

<211> 386

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia de polipéptido sintética

ES 2 799 503 T3

<400> 77

```

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

Leu Arg Gly Ala Arg Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
          20          25          30

Ala Pro Ala Leu Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
          35          40          45

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
          50          55          60

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
65          70          75          80

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
          85          90          95

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
          100          105          110

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
          115          120          125

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
          130          135          140

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
145          150          155          160

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
          165          170          175

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
          180          185          190

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
          195          200          205

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
          210          215          220

```

ES 2 799 503 T3

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
225 230 235 240

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
245 250 255

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
260 265 270

Gly Ser Ala Arg Asn Gly Thr His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys
275 280 285

Cys Arg Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala
290 295 300

Asp Trp Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly
305 310 315 320

Ala Cys Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys
325 330 335

Thr Ser Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys
340 345 350

Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr
355 360 365

Gly Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His
370 375 380

Cys Ile
385

<210> 78

<211> 369

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia de polipéptido sintética

10

<400> 78

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

Leu Arg Gly Ala Arg Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
20 25 30

ES 2 799 503 T3

Ala	Pro	Ala	Leu	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys
	35						40					45			
Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val
	50					55					60				
Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr
65					70					75					80
Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu
				85					90					95	
Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His
			100					105					110		
Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys
		115					120					125			
Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln
	130					135					140				
Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met
145					150					155					160
Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Trp	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro
			165						170					175	
Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn
		180						185					190		
Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu
		195					200					205			
Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val
	210					215					220				
Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln
225					230					235					240
Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly
				245					250					255	
Gly	Gly	Ser	Asn	Gly	Thr	His	Cys	Pro	Leu	Gly	Pro	Gly	Arg	Cys	Cys
			260					265					270		
Arg	Leu	His	Thr	Val	Arg	Ala	Ser	Leu	Glu	Asp	Leu	Gly	Trp	Ala	Asp
	275						280					285			

ES 2 799 503 T3

Trp Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala
290 295 300

Cys Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr
305 310 315 320

Ser Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val
325 330 335

Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly
340 345 350

Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys
355 360 365

Ile

<210> 79

<211> 249

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia de polipéptido sintética

10

<400> 79

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

Leu Arg Gly Ala Arg Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
20 25 30

Ala Pro Ala Leu Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
35 40 45

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
50 55 60

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
65 70 75 80

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
85 90 95

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
100 105 110

ES 2 799 503 T3

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
115 120 125

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
130 135 140

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
145 150 155 160

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro
165 170 175

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
180 185 190

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
195 200 205

Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
210 215 220

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
225 230 235 240

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
245

<210> 80

<211> 384

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia de polipéptido sintética

10

<400> 80

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

Leu Arg Gly Ala Arg Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
20 25 30

Ala Pro Ala Leu Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
35 40 45

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
50 55 60

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr

ES 2 799 503 T3

65			70			75			80						
Val	Asp	Gly	Val	Glu 85	Val	His	Asn	Ala	Lys 90	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu 95	Glu
Gln	Tyr	Asn	Ser 100	Thr	Tyr	Arg	Val	Val 105	Ser	Val	Leu	Thr	Val 110	Leu	His
Gln	Asp	Trp 115	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu 120	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val 125	Ser	Asn	Lys
Ala	Leu 130	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu 135	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys 140	Ala	Lys	Gly	Gln
Pro 145	Arg	Glu	Pro	Gln	Val 150	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro 155	Ser	Arg	Glu	Glu	Met 160
Thr	Lys	Asn	Gln 165	Val	Ser	Leu	Trp	Cys	Leu 170	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr 175	Pro
Ser	Asp	Ile 180	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser 185	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu 190	Asn	Asn
Tyr	Lys	Thr 195	Thr	Pro	Pro	Val	Leu 200	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser 205	Phe	Phe	Leu
Tyr 210	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp 215	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln 220	Gln	Gly	Asn	Val
Phe 225	Ser	Cys	Ser	Val	Met 230	His	Glu	Ala	Leu	His 235	Asn	His	Tyr	Thr	Gln 240
Lys	Ser	Leu	Ser	Leu 245	Ser	Pro	Gly	Lys	Gly 250	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly 255	Gly
Gly	Gly	Ser	Gly 260	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly 265	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly 270	Gly	Gly
Gly	Ser	Asn 275	Gly	Thr	His	Cys	Pro 280	Leu	Gly	Pro	Gly	Arg 285	Cys	Cys	Arg
Leu 290	His	Thr	Val	Arg	Ala	Ser 295	Leu	Glu	Asp	Leu	Gly 300	Trp	Ala	Asp	Trp
Val 305	Leu	Ser	Pro	Arg	Glu 310	Val	Gln	Val	Thr	Met 315	Cys	Ile	Gly	Ala	Cys 320

ES 2 799 503 T3

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser
325 330 335

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro
340 345 350

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val
355 360 365

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
370 375 380

<210> 81

<211> 249

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia de polipéptido sintética

10

<400> 81

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

Leu Arg Gly Ala Arg Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
20 25 30

Ala Pro Ala Leu Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
35 40 45

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
50 55 60

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
65 70 75 80

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
85 90 95

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
100 105 110

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
115 120 125

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
130 135 140

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met

ES 2 799 503 T3

145 150 155 160

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro
165 170 175

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
180 185 190

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
195 200 205

Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
210 215 220

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
225 230 235 240

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
245

<210> 82

<211> 383

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia de polipéptido sintética

10

<400> 82

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

Leu Arg Gly Ala Arg Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
20 25 30

Ala Pro Ala Leu Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
35 40 45

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
50 55 60

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
65 70 75 80

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
85 90 95

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
100 105 110

ES 2 799 503 T3

Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys
		115				120					125				
Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln
		130				135					140				
Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met
		145			150				155				160		
Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Trp	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro
			165				170						175		
Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn
			180				185						190		
Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu
		195				200						205			
Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val
		210				215				220					
Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln
				230				235						240	
Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly
				245				250						255	
Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly
		260						265				270			
Gly	Ser	Gly	Asp	His	Cys	Pro	Leu	Gly	Pro	Gly	Arg	Cys	Cys	Arg	Leu
		275				280						285			
His	Thr	Val	Asn	Ala	Ser	Leu	Glu	Asp	Leu	Gly	Trp	Ala	Asp	Trp	Val
		290				295				300					
Leu	Ser	Pro	Arg	Glu	Val	Gln	Val	Thr	Met	Cys	Ile	Gly	Ala	Cys	Pro
		305		310						315				320	
Ser	Gln	Phe	Arg	Ala	Ala	Asn	Met	His	Ala	Gln	Ile	Lys	Thr	Ser	Leu
				325				330						335	
His	Arg	Leu	Lys	Pro	Asp	Thr	Val	Pro	Ala	Pro	Cys	Cys	Val	Pro	Ala
		340						345				350			
Ser	Tyr	Asn	Pro	Met	Val	Leu	Ile	Gln	Lys	Thr	Asp	Thr	Gly	Val	Ser
		355				360						365			
Leu	Gln	Thr	Tyr	Asp	Asp	Leu	Leu	Ala	Lys	Asp	Cys	His	Cys	Ile	
		370		375		380									

<210> 83
 <211> 249
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> secuencia de polipéptido sintética

<400> 83

10

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

ES 2 799 503 T3

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
195 200 205

Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
210 215 220

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
225 230 235 240

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
245

<210> 84

<211> 383

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia de polipéptido sintética

10

<400> 84

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

Leu Arg Gly Ala Arg Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
20 25 30

Ala Pro Ala Leu Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
35 40 45

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
50 55 60

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
65 70 75 80

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
85 90 95

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
100 105 110

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
115 120 125

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
130 135 140

ES 2 799 503 T3

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
145 150 155 160

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
165 170 175

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
180 185 190

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
195 200 205

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
210 215 220

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
225 230 235 240

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
245 250 255

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
260 265 270

Gly Ser Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu
275 280 285

His Thr Val Arg Ala Asn Leu Thr Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val
290 295 300

Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro
305 310 315 320

Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu
325 330 335

His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala
340 345 350

Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser
355 360 365

Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
370 375 380

<210> 85

<211> 249

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia de polipéptido sintética

ES 2 799 503 T3

<400> 85

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

Leu Arg Gly Ala Arg Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
20 25 30

Ala Pro Ala Leu Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
35 40 45

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
50 55 60

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
65 70 75 80

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
85 90 95

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
100 105 110

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
115 120 125

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
130 135 140

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
145 150 155 160

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro
165 170 175

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
180 185 190

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
195 200 205

Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
210 215 220

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
225 230 235 240

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
245

5

<210> 86

<211> 383

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia de polipéptido sintética

5

<400> 86

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

Leu Arg Gly Ala Arg Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
20 25 30

Ala Pro Ala Leu Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
35 40 45

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
50 55 60

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
65 70 75 80

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
85 90 95

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
100 105 110

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
115 120 125

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
130 135 140

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
145 150 155 160

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
165 170 175

ES 2 799 503 T3

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
180 185 190

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
195 200 205

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
210 215 220

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
225 230 235 240

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
245 250 255

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
260 265 270

Gly Ser Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu
275 280 285

His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val
290 295 300

Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro
305 310 315 320

Ser Gln Asn Arg Thr Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu
325 330 335

His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala
340 345 350

Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser
355 360 365

Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
370 375 380

<210> 87

<211> 249

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia de polipéptido sintética

10

<400> 87

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp

ES 2 799 503 T3

1	5	10	15
Leu Arg Gly Ala Arg Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro	20	25	30
Ala Pro Ala Leu Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys	35	40	45
Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val	50	55	60
Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr	65	70	75
Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu	85	90	95
Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His	100	105	110
Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys	115	120	125
Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln	130	135	140
Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met	145	150	155
Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro	165	170	175
Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn	180	185	190
Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu	195	200	205
Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val	210	215	220
Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln	225	230	235
Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys	245		

<210> 88

<211> 383

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

ES 2 799 503 T3

<223> secuencia de polipéptido sintética

<400> 88

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

Leu Arg Gly Ala Arg Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
20 25 30

Ala Pro Ala Leu Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
35 40 45

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
50 55 60

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
65 70 75 80

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
85 90 95

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
100 105 110

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
115 120 125

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
130 135 140

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
145 150 155 160

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
165 170 175

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
180 185 190

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
195 200 205

5 Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val

ES 2 799 503 T3

210

215

220

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
225 230 235 240

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
245 250 255

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
260 265 270

Gly Ser Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu
275 280 285

His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val
290 295 300

Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro
305 310 315 320

Ser Gln Phe Asn Ala Thr Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu
325 330 335

His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala
340 345 350

Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser
355 360 365

Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
370 375 380

<210> 89

<211> 249

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia de polipéptido sintética

10

<400> 89

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

Leu Arg Gly Ala Arg Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
20 25 30

Ala Pro Ala Leu Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
35 40 45

ES 2 799 503 T3

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
50 55 60

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
65 70 75 80

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
85 90 95

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
100 105 110

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
115 120 125

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
130 135 140

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
145 150 155 160

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro
165 170 175

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
180 185 190

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
195 200 205

Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
210 215 220

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
225 230 235 240

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
245

<210> 90

<211> 383

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia de polipéptido sintética

10

<400> 90

ES 2 799 503 T3

Met	Asp	Met	Arg	Val	Pro	Ala	Gln	Leu	Leu	Gly	Leu	Leu	Leu	Leu	Trp	1	5	10	15
Leu	Arg	Gly	Ala	Arg	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	20	25	30	
Ala	Pro	Ala	Leu	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	35	40	45	
Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	50	55	60	
Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	65	70	75	80
Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	85	90	95	
Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	100	105	110	
Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	115	120	125	
Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	130	135	140	
Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	145	150	155	160
Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Trp	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	165	170	175	
Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	180	185	190	
Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	195	200	205	
Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	210	215	220	
Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	225	230	235	240
Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	245	250	255	

ES 2 799 503 T3

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
260 265 270

Gly Ser Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu
275 280 285

His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val
290 295 300

Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro
305 310 315 320

Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu
325 330 335

His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala
340 345 350

Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Asn Thr Thr Thr Gly Val Ser
355 360 365

Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
370 375 380

<210> 91

<211> 249

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia de polipéptido sintética

10

<400> 91

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

Leu Arg Gly Ala Arg Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
20 25 30

Ala Pro Ala Leu Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
35 40 45

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
50 55 60

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
65 70 75 80

ES 2 799 503 T3

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
85 90 95

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
100 105 110

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
115 120 125

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
130 135 140

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
145 150 155 160

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro
165 170 175

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
180 185 190

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
195 200 205

Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
210 215 220

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
225 230 235 240

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
245

<210> 92

<211> 383

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia de polipéptido sintético

10

<400> 92

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

Leu Arg Gly Ala Arg Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
20 25 30

ES 2 799 503 T3

Ala Pro Ala Leu Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
 35 40 45
 Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 50 55 60
 Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 65 70 75 80
 Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 85 90 95
 Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 100 105 110
 Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 115 120 125
 Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 130 135 140
 Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
 145 150 155 160
 Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 165 170 175
 Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 180 185 190
 Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 195 200 205
 Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 210 215 220
 Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 225 230 235 240
 Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 245 250 255
 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
 260 265 270
 Gly Ser Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu
 275 280 285

ES 2 799 503 T3

His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val
290 295 300

Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro
305 310 315 320

Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu
325 330 335

His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala
340 345 350

Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asn Thr Thr Val Ser
355 360 365

Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
370 375 380

<210> 93

<211> 249

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia de polipéptido sintético

10

<400> 93

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

Leu Arg Gly Ala Arg Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
20 25 30

Ala Pro Ala Leu Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
35 40 45

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
50 55 60

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
65 70 75 80

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
85 90 95

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
100 105 110

ES 2 799 503 T3

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
115 120 125

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
130 135 140

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
145 150 155 160

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro
165 170 175

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
180 185 190

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
195 200 205

Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
210 215 220

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
225 230 235 240

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
245

<210> 94

<211> 31

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia de polipéptido sintético

10

<400> 94

His Gly Pro Glu Gly Leu Arg Val Gly Phe Tyr Glu Ser Asp Val Met
1 5 10 15

Gly Arg Gly His Ala Arg Leu Val His Val Glu Glu Pro His Thr
20 25 30

15 <210> 95

<211> 6

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20 <220>

<223> secuencia de polipéptido sintético

<400> 95

Ala Arg Asn Gly Asp His

25 1

5

<210> 96
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 5
 <220>
 <223> secuencia de polipéptido sintético
 <400> 96
 10 Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
 1 5
 <210> 97
 <211> 8
 15 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> secuencia de polipéptido sintético
 20 <400> 97
 Ala Pro Ala Leu Ala Gly Gly Pro
 1 5
 25 <210> 98
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 30 <220>
 <223> secuencia de polipéptido sintético
 <400> 98
 Ala Pro Ala Leu Leu Gly Gly Pro
 35 1 5
 <210> 99
 <211> 8
 <212> PRT
 40 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> secuencia de polipéptido sintético
 45 <400> 99
 Ala Pro Glu Leu Ala Gly Gly Pro
 1 5
 <210> 100
 50 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 55 <223> secuencia de polipéptido sintético
 <400> 100

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
 1 5 10 15

<210> 101
 <211> 13
 5 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> secuencia de polipéptido sintético

10 <400> 101

Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
 1 5 10

15 <210> 102
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> secuencia de polipéptido sintético

<400> 102

Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
 25 1 5 10

<210> 103
 <211> 11
 <212> PRT
 30 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> secuencia de polipéptido sintético

35 <400> 103

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
 1 5 10

<210> 104
 40 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 45 <223> secuencia de polipéptido sintético

<400> 104

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
 1 5 10

50 <210> 105
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

55 <220>
 <223> secuencia de polipéptido sintético

<400> 105

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
1 5

5 <210> 106
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> secuencia de polipéptido sintético

<400> 106

15 Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
1 5

<210> 107
<211> 5
20 <212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> secuencia de polipéptido sintético

25 <400> 107

Cys Pro Pro Cys Pro
1 5

30 <210> 108
<211> 134
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

35 <220>
<223> secuencia de polipéptido sintético

<400> 108

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

Leu Arg Gly Ala Arg Cys Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly
40 20 25 30

ES 2 799 503 T3

Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp
35 40 45

Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr
50 55 60

Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His
65 70 75 80

Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro
85 90 95

Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln
100 105 110

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

Lys Asp Cys His Cys Ile
130

<210> 109

<211> 134

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia de polipéptido sintético

10

<400> 109

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

Leu Arg Gly Ala Arg Cys Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly
20 25 30

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

Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr
50 55 60

Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His
65 70 75 80

Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro
85 90 95

ES 2 799 503 T3

Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln
100 105 110

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

Lys Asp Cys His Cys Ile
130

<210> 110

<211> 134

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia de polipéptido sintético

10

<400> 110

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

Leu Arg Gly Ala Arg Cys Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly
20 25 30

Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp
35 40 45

Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr
50 55 60

Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln Phe Asn Ala Thr Asn Met His
65 70 75 80

Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro
85 90 95

Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln
100 105 110

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

Lys Asp Cys His Cys Ile
130

15 <210> 111

<211> 134

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20 <220>

<223> secuencia de polipéptido sintético

<400> 111

ES 2 799 503 T3

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

Leu Arg Gly Ala Arg Cys Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly
20 25 30

Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp
35 40 45

Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr
50 55 60

Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His
65 70 75 80

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

Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln
100 105 110

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

Lys Asp Cys His Cys Ile
130

<210> 112

5 <211> 134

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> secuencia de polipéptido sintético

<400> 112

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

Leu Arg Gly Ala Arg Cys Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly
20 25 30

Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp
35 40 45

15

ES 2 799 503 T3

Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr
50 55 60

Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His
65 70 75 80

Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg Leu Lys Asn Asp Thr Val Pro
85 90 95

Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln
100 105 110

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

Lys Asp Cys His Cys Ile
130

<210> 113

<211> 134

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia de polipéptido sintético

10

<400> 113

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

Leu Arg Gly Ala Arg Cys Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly
20 25 30

Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp
35 40 45

Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr
50 55 60

Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His
65 70 75 80

Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro
85 90 95

Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Asn
100 105 110

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

Lys Asp Cys His Cys Ile
130

15

<210> 114
 <211> 134
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> secuencia de polipéptido sintético

<400> 114

10

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

Leu Arg Gly Ala Arg Cys Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly
 20 25 30

Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp
 35 40 45

Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr
 50 55 60

Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His
 65 70 75 80

Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro
 85 90 95

Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln
 100 105 110

Asn Thr Thr Thr Gly Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala
 115 120 125

Lys Asp Cys His Cys Ile
 130

<210> 115
 <211> 134
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15

<220>
 <223> secuencia de polipéptido sintético

20

<400> 115

ES 2 799 503 T3

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

Leu Arg Gly Ala Arg Cys Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly
20 25 30

Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp
35 40 45

Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr
50 55 60

Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His
65 70 75 80

Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro
85 90 95

Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln
100 105 110

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

Lys Asp Cys His Cys Ile
130

<210> 116

<211> 134

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia de polipéptido sintético

10

<400> 116

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

Leu Arg Gly Ala Arg Cys Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly
20 25 30

Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp
35 40 45

Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr
50 55 60

ES 2 799 503 T3

Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His
65 70 75 80

Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro
85 90 95

Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln
100 105 110

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

Lys Asp Cys His Cys Ile
130

<210> 117

<211> 134

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia de polipéptido sintético

10

<400> 117

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

Leu Arg Gly Ala Arg Cys Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly
20 25 30

Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp
35 40 45

Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr
50 55 60

Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His
65 70 75 80

Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro
85 90 95

Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln
100 105 110

Lys Thr Asp Thr Gly Val Asn Leu Thr Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala
115 120 125

Lys Asp Cys His Cys Ile

130

15

<210> 118

<211> 134

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia de polipéptido sintético

10 <400> 118

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

Leu Arg Gly Ala Arg Cys Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly
20 25 30

Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp
35 40 45

Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr
50 55 60

Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His
65 70 75 80

Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro
85 90 95

Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln
100 105 110

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

Lys Asp Cys His Cys Ile
130

<210> 119

15 <211> 17

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

20 <223> secuencia de polipéptido sintético

<400> 119

Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His
1 5 10 15

25

Thr

<210> 120

<211> 5

<212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 5 <223> secuencia de polipéptido sintético

 <220>
 <221> MISC_FEATURE

 10 <222> (1)..(5)
 <223> este tramo de aminoácidos puede repetirse hasta 50 veces

 <400> 120

 Gly Ser Gly Gly Ser
 15 1 5

 <210> 121
 <211> 5
 <212> PRT
 20 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> secuencia de polipéptido sintético

 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE

 <222> (1)..(1)
 <223> este aminoácido puede repetirse hasta 20 veces
 30
 <220>
 <221> MISC_FEATURE

 <222> (1)..(5)
 35 <223> este tramo de aminoácidos puede repetirse hasta 20 veces

 <220>
 <221> MISC_FEATURE

 40 <222> (2)..(2)
 <223> este aminoácido puede repetirse hasta 20 veces

 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 45
 <222> (3)..(3)
 <223> este aminoácido puede repetirse hasta 20 veces

 <220>
 50 <221> MISC_FEATURE

 <222> (4)..(4)
 <223> este aminoácido puede repetirse hasta 20 veces

 55 <220>
 <221> MISC_FEATURE

 <222> (5)..(5)
 <223> este aminoácido puede repetirse hasta 20 veces
 60
 <400> 121

Gly Ser Gly Ser Gly
 1 5

<210> 122
 5 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 10 <223> secuencia de polipéptido sintético

<220>
 <221> MISC_FEATURE

15 <222> (1)..(5)
 <223> este tramo de aminoácidos puede repetirse hasta 20 veces

<220>
 <221> MISC_FEATURE

20 <222> (5)..(5)
 <223> este aminoácido puede repetirse hasta 20 veces

<400> 122

25 Gly Ser Gly Gly Ser
 1 5

<210> 123
 <211> 5
 30 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> secuencia de polipéptido sintético

35 <220>
 <221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(5)
 40 <223> este tramo de aminoácidos puede repetirse hasta 20 veces

<220>
 <221> MISC_FEATURE

45 <222> (2)..(2)
 <223> este aminoácido puede repetirse hasta 20 veces

<400> 123

Gly Ser Gly Ser Gly
 50 1 5

<210> 124
 <211> 4
 <212> PRT
 55 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> secuencia de polipéptido sintético

```

<220>
<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(4)
5 <223> este tramo de aminoácidos puede repetirse hasta 20 veces

<220>
<221> MISC_FEATURE

10 <222> (4)..(4)
    <223> este aminoácido puede repetirse hasta 20 veces

    <400> 124

    Gly Gly Gly Ser
15 1

    <210> 125
    <211> 4
    <212> PRT
20 <213> Secuencia artificial

    <220>
    <223> secuencia de polipéptido sintético

25 <220>
    <221> MISC_FEATURE

    <222> (1)..(4)
    <223> este tramo de aminoácidos puede repetirse hasta 50 veces
30

    <400> 125

    Gly Gly Gly Ser
    1

35 <210> 126
    <211> 5
    <212> PRT
    <213> Secuencia artificial

40 <220>
    <223> secuencia de polipéptido sintético

    <220>
    <221> MISC_FEATURE
45

    <222> (1)..(5)
    <223> este tramo de aminoácidos puede repetirse hasta 50 veces

    <400> 126
50

    Gly Gly Gly Gly Ser
    1          5

    <210> 127
    <211> 227
55 <212> PRT
    <213> Secuencia artificial

    <220>
    <223> secuencia de polipéptido sintético

```

ES 2 799 503 T3

<400> 127

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Ala Leu Ala Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

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

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

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

Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

5

<210> 128

<211> 112

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

10

<220>

<223> secuencia de polipéptido sintético

<400> 128

5

Ala Arg Asn Gly Thr His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg
1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp
20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys
35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser
50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro
65 70 75 80

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

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
100 105 110

<210> 129

<211> 110

10 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia de polipéptido sintético

15

<400> 129

Asn Gly Thr His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His
1 5 10 15

Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu
20 25 30

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

Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His

ES 2 799 503 T3

50

55

60

Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser
65 70 75 80

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

Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
100 105 110

<210> 130

<211> 109

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia de polipéptido sintético

10

<400> 130

Gly Thr His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr
1 5 10 15

Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser
20 25 30

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

Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg
50 55 60

Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr
65 70 75 80

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

Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
100 105

15 <210> 131

<211> 109

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20 <220>

<223> secuencia de polipéptido sintético

<400> 131

ES 2 799 503 T3

Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr
1 5 10 15

Val Asn Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser
20 25 30

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

Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg
50 55 60

Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr
65 70 75 80

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

Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
100 105

<210> 132

<211> 109

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia de polipéptido sintético

10

<400> 132

Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr
1 5 10 15

Val Arg Ala Asn Leu Thr Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser
20 25 30

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

Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg
50 55 60

Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr
65 70 75 80

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

Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile

15 100

105

<210> 133

<211> 109
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <223> secuencia de polipéptido sintético

<400> 133

Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr
 1 5 10 15

Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser
 20 25 30

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

Asn Arg Thr Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg
 50 55 60

Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr
 65 70 75 80

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

10 Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
 100 105

<210> 134
 <211> 109
 <212> PRT

15 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> secuencia de polipéptido sintético

20 <400> 134

Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr
 1 5 10 15

Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser
 20 25 30

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

ES 2 799 503 T3

Phe Asn Ala Thr Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg
50 55 60

Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr
65 70 75 80

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

Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
100 105

<210> 135

<211> 109

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia de polipéptido sintético

10

<400> 135

Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr
1 5 10 15

Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser
20 25 30

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

Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg
50 55 60

Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr
65 70 75 80

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

Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
100 105

15 <210> 136

<211> 109

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20 <220>

<223> secuencia de polipéptido sintético

<400> 136

ES 2 799 503 T3

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

REIVINDICACIONES

1. Un complejo que comprende un primer heterodímero y un segundo heterodímero, comprendiendo cada uno del primer heterodímero y segundo heterodímero:

(i) un primer polipéptido que comprende del extremo N al extremo C:

un IgG Fc humano que comprende una región bisagra y una secuencia CH3 que comprende al menos una protuberancia diseñada que comprende al menos una sustitución del aminoácido correspondiente en una secuencia de IgG 1 Fc humana, donde la sustitución se selecciona de entre el grupo que consiste en Q347W/Y, T366W/Y, y T394W/Y según la numeración de la UE;

un enlazador,

una muteína GDF15 que comprende una secuencia de aminoácidos contigua de al menos 98 aminoácidos de longitud y al menos en un 95 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1 donde los aminoácidos del extremo C corresponde ácido a isoleucina en la posición 112 en la SEQ ID NO: 1, y la secuencia de aminoácidos contigua no comprende los dos primeros amino ácidos presentes en el extremo N de la SEQ ID NO: 1, y donde la muteína GDF15 comprende una sustitución D5T con relación a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1; y

(ii) un segundo polipéptido que comprende del extremo N al extremo C:

una secuencia IgG Fc humana que comprende una región bisagra y una secuencia CH3 que comprende al menos una cavidad modificada que comprende al menos una sustitución del aminoácido correspondiente en una secuencia de IgG 1 Fc humana, donde la sustitución se selecciona del grupo que consiste en T366S, L368A, T394S, F405T/V/A, y Y407T/V/A, según la numeración de la UE;

donde el primer polipéptido se dimeriza con el segundo polipéptido mediante el posicionamiento de la protuberancia del primer polipéptido en la cavidad del segundo polipéptido; y

donde la muteína GDF15 en el primer heterodímero se dimeriza con la muteína GDF15 en el segundo heterodímero formando de este modo el complejo que comprende el primer heterodímero y el segundo heterodímero.

2. El complejo de la reivindicación 1, donde el enlazador comprende la secuencia glicina-glicina-glicina-glicina-Ser (G₄ S)_n, donde n=2-5.

3. El complejo de la reivindicación 1, donde el enlazador comprende la secuencia (G₄ S)₃ o (G₄ S)₅.

4. El complejo de la reivindicación 1, donde el primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 3 y el segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 4.

5. El complejo de la reivindicación 1, donde el primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 5 y el segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 6.

6. El complejo de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde el primer polipéptido está glicosilado.

7. Un ácido nucleico que codifica el primer y segundo polipéptidos de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde el ácido nucleico está opcionalmente unido operativamente a un elemento de control de expresión que confiere la expresión de los primer y segundo polipéptidos a partir del ácido nucleico; o

un primer ácido nucleico que codifica el primer polipéptido de cualquiera de las reivindicaciones anteriores y un segundo ácido nucleico que codifica el segundo polipéptido de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde cada uno de los primer y segundo ácidos nucleicos está opcionalmente unido operativamente a un elemento de control de expresión que confiere la expresión de los primer y segundo polipéptidos del primer y segundo ácidos nucleicos, respectivamente.

8. Un vector que comprende el ácido nucleico de la reivindicación 7, donde el vector es opcionalmente un vector viral; o

un primer vector que comprende el primer nucleico y un segundo vector que comprende el segundo ácido nucleico de la reivindicación 7, donde cada uno de los primer y segundo vectores es opcionalmente un vector viral.

9. Una célula huésped que comprende:

- (a) la molécula de ácido nucleico de la reivindicación 7;
- (b) el primer y el segundo ácidos nucleicos de la reivindicación 7;
- (c) el vector de la reivindicación 8; o
- (d) el primer y segundo vectores de la reivindicación 8.

5

10. Una composición farmacéutica que comprende el complejo de cualquiera de las reivindicaciones 1-6 y un diluyente, vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable.

11. Una composición que comprende el complejo de cualquiera de las reivindicaciones 1-6 para su uso en
10 un procedimiento de tratamiento o prevención de un trastorno de peso corporal o un trastorno de metabolismo de la glucosa en un sujeto.

12. La composición para el uso de la reivindicación 11, donde el sujeto es obeso, o donde el sujeto tiene diabetes mellitus.

15

13. La composición de cualquiera de las reivindicaciones 11-12, que comprende un diluyente, vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable.

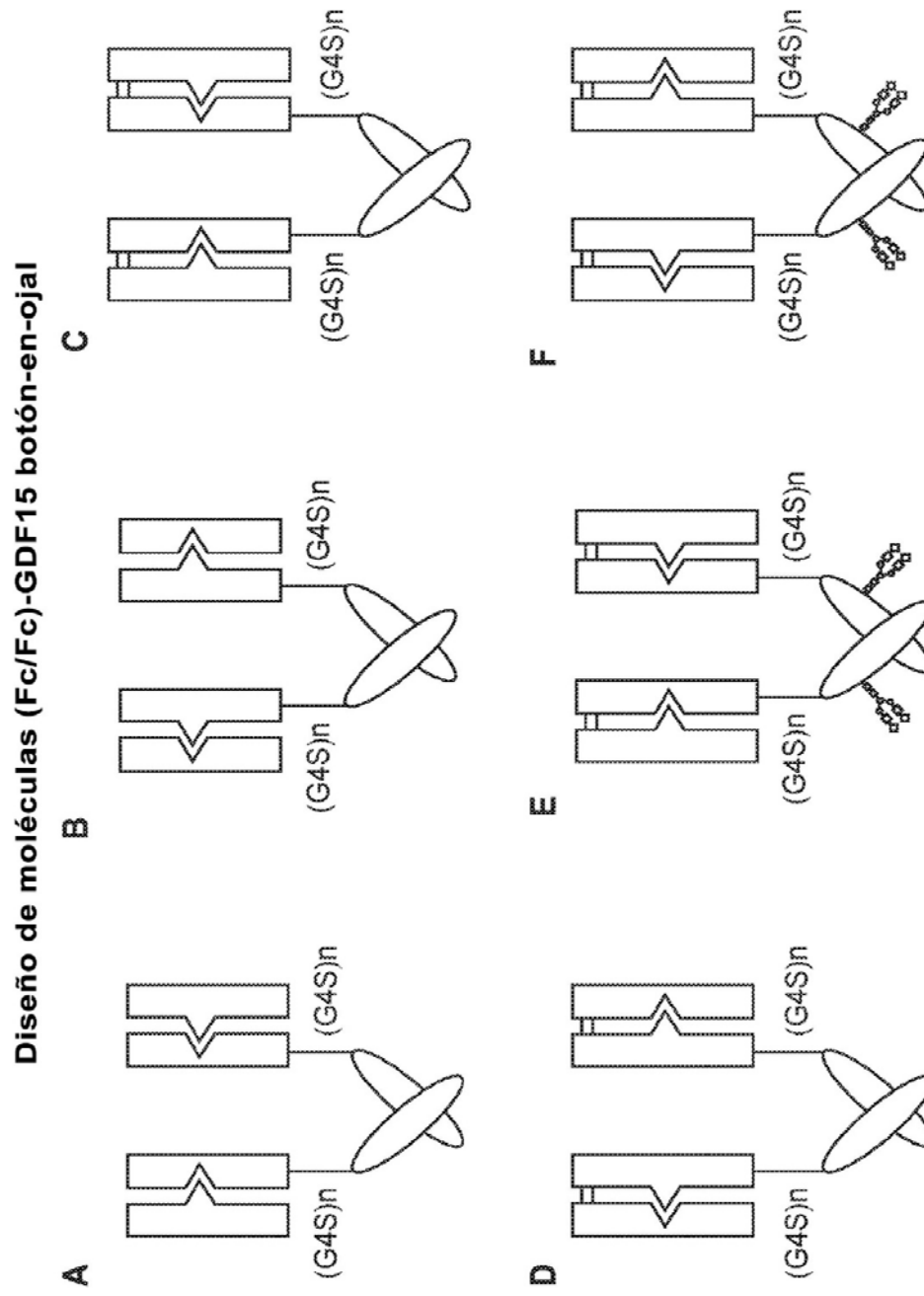


FIG. 1

Figura 2A: Recuperaciones de moléculas de botón-en-ochal diseñadas (Fc/Fc)-GDF15

Cadena A de Fc-GDF15	Cadena asociada b de Fc heterodímero (botón/ochal)	Número de variante	Mutina GDF15 (glicosilada)	Recuperación (mg/L)
hlgG1-Fc(AA)(T366Y)-(G ₄ S) ₅ -ΔN3-GDF15 (G4-I112)	hlgG1-Fc(AA)(Y407T)	B1a/B1b	NO	<25
hlgG1-Fc(AA)(Y407T)-(G ₄ S) ₅ -ΔN3-GDF15 (G4-I112)	hlgG1-Fc(AA)(T366Y)	B2a/B2b	NO	25-49,9
hlgG1-Fc(Δbisagra, AA)(T366Y)-(G ₄ S) ₅ -ΔN3-GDF15 (G4-I112)	hlgG1-Fc(Δbisagra, AA)(Y407T)	B3a/B3b	NO	50-74,9
hlgG1-Fc(Δbisagra, AA)(Y407T)-(G ₄ S) ₅ -ΔN3-GDF15 (G4-I112)	hlgG1-Fc(Δbisagra, AA)(T366Y)	B4a/B4b	NO	<25
hlgG1-Fc(AA)(T366W)-(G ₄ S) ₅ -ΔN3-GDF15 (G4-I112)	hlgG1-Fc(AA)(T366S, L368A, Y407V)	B5a/B5b	NO	<25
hlgG1-Fc(AA)(T366S, L368A, Y407V)-(G ₄ S) ₅ -ΔN6-GDF15 (C7-I112)	hlgG1-Fc(AA)(T366W)	B6a/B6b	NO	<25
hlgG1-Fc(Δbisagra, AA)(T366W)-(G ₄ S) ₅ -ΔN3-GDF15 (G4-I112)	hlgG1-Fc(Δbisagra, AA)(T366S, L368A, Y407V)	B7a/B7b	NO	25-49,9
hlgG1-Fc(Δbisagra, AA)(T366S, L368A, Y407V)-(G ₄ S) ₅ -ΔN6-GDF15(C7-I112)	hlgG1-Fc(Δbisagra, AA)(T366W)	B8a/B8b	NO	N/A
hlgG1-Fc(AA)(T366W)-(G ₄ S) ₅ -GDF15 (A1-I112) (D5T)	hlgG1-Fc(AA)(T366S, L368A, Y407V)	B9a/B9b	SÍ	>100
hlgG1-Fc(AA)(T366W)-(G ₄ S) ₄ -GDF15 (A1-I112) (D5T)	hlgG1-Fc(AA)(T366S, L368A, Y407V)	B10a/B10b	SÍ	>100
hlgG1-Fc(AA)(T366W)-(G ₄ S) ₅ -GDF15 (A1-I112) (D5T)	hlgG1-Fc(AA)(T366S, L368A, Y407V)	B11a/B11b	SÍ	>100
hlgG1-Fc(AA)(T366W)-(G ₄ S) ₅ -ΔN2-GDF15 (N3-I112) (D5T)	hlgG1-Fc(AA)(T366S, L368A, Y407V)	B12a/B12b	SÍ	75-99
hlgG1-Fc(AA)(T366W)-(G ₄ S) ₅ -ΔN2-GDF15 (N3-I112) (D5T)	hlgG1-Fc(AA)(T366S, L368A, Y407V)	B13a/B13b	SÍ	>100
hlgG1-Fc(AA)(T366W)-(G ₄ S) ₅ -ΔN3-GDF15 (G4-I112)(R21N)	hlgG1-Fc(AA)(T366S, L368A, Y407V)	B14a/B14b	SÍ	75-99
hlgG1-Fc(AA)(T366W)-(G ₄ S) ₅ -ΔN3-GDF15 (G4-I112)(S23N/E25T)	hlgG1-Fc(AA)(T366S, L368A, Y407V)	B15a/B15b	SÍ	75-99
hlgG1-Fc(AA)(T366W)-(G ₄ S) ₅ -ΔN3-GDF15 (G4-I112)(F52N/A54T)	hlgG1-Fc(AA)(T366S, L368A, Y407V)	B16a/B16b	SÍ	>100
hlgG1-Fc(AA)(T366W)-(G ₄ S) ₅ -ΔN3-GDF15 (G4-I112)(R53N/A55T)	hlgG1-Fc(AA)(T366S, L368A, Y407V)	B17a/B17b	SÍ	75-99
hlgG1-Fc(AA)(T366W)-(G ₄ S) ₅ -ΔN3-GDF15 (G4-I112) (K91N/D93T)	hlgG1-Fc(AA)(T366S, L368A, Y407V)	B18a/B18b	SÍ	75-99
hlgG1-Fc(AA)(T366W)-(G ₄ S) ₅ -ΔN3-GDF15 (G4-I112)(D93N/G95T)	hlgG1-Fc(AA)(T366S, L368A, Y407V)	B19a/B19b	SÍ	50-74,9

Figura 2B-Recuperaciones de glucomuteínas GDF15

<u>Glucovariante</u>	<u>Recuperación (mg/L)</u>
hGDF15 wild-type	< 0,99
R21N	< 0,99
R53N/A55T	4 - 7,99
S64N/H66T	16 - 31,99
P70N	2 - 3,99
Q90N	4 - 7,99
K91N/D93T	16 - 31,99
D93N/G95T	8 - 15,99
G95N	8 - 15,99
S97N/Q99T	8 - 15,99
L98N	4 - 7,99

Figura 3 - Reducción del peso corporal en el modelo de ratón DIO tras el suministro de 0,4 nmol/kg de moléculas (Fc/Fc)-GDF15

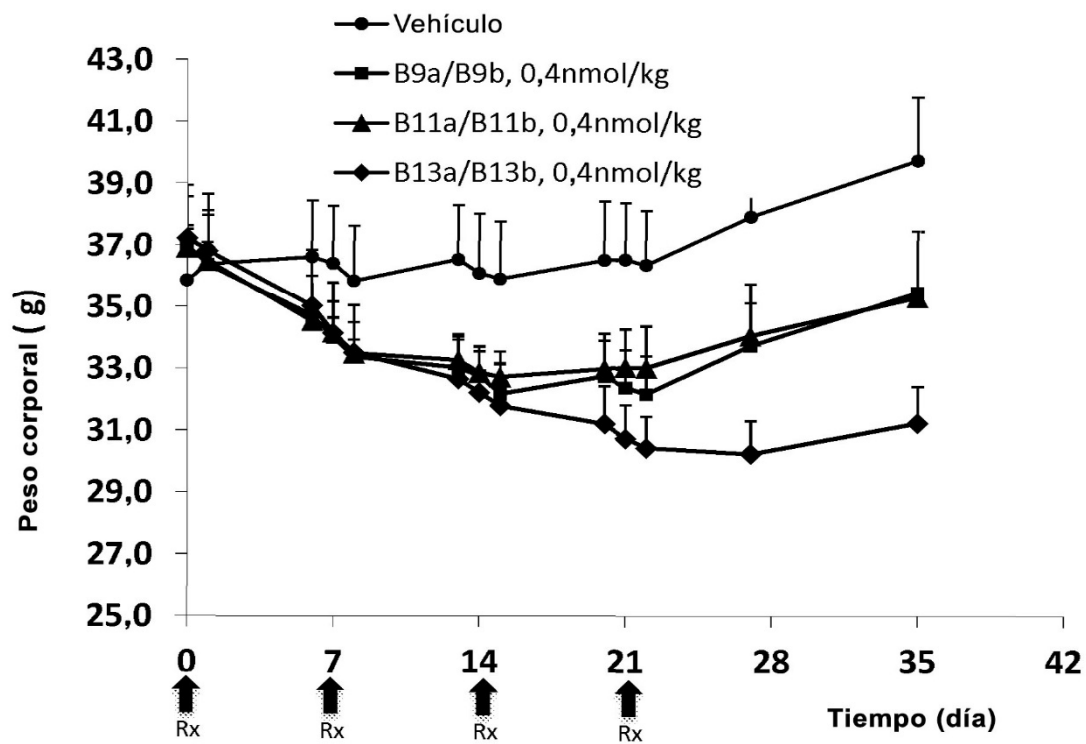


Figura 4 - Reducción porcentual del peso corporal en el modelo de ratón DIO tras el suministro de 0,4 nmol/kg de moléculas (Fc/Fc)-GDF15

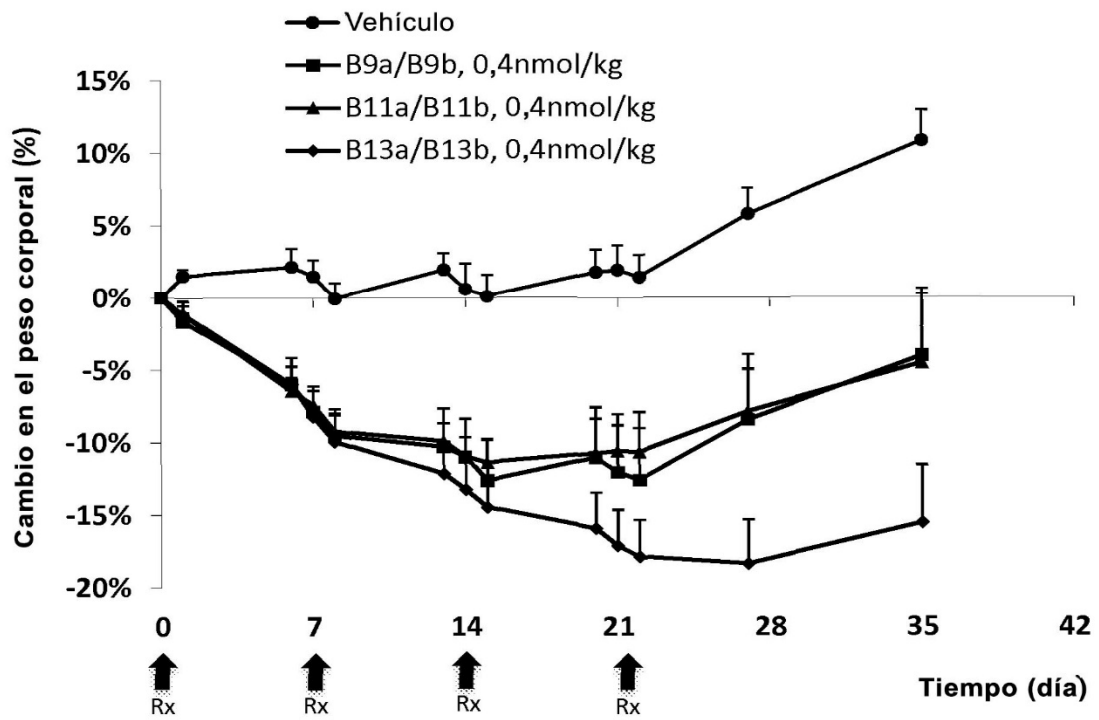


Figura 5 - Reducción del peso corporal en el modelo de ratón DIO tras el suministro de 4,0 nmol/kg de moléculas (Fc/Fc)-GDF15

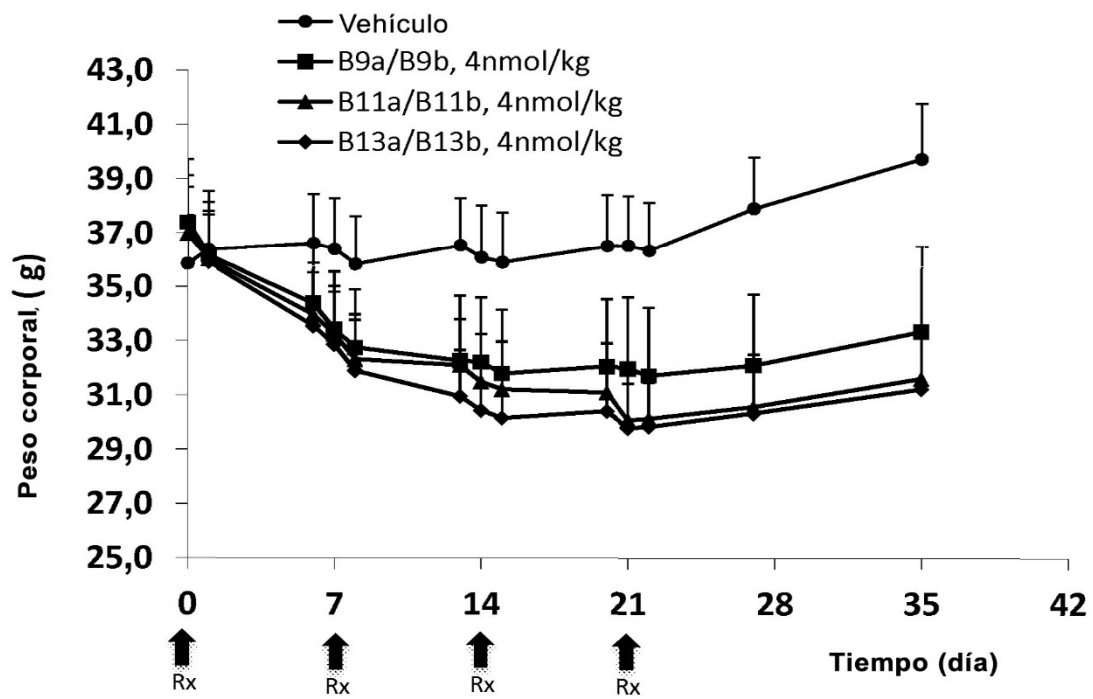


Figura 6 - Reducción porcentual del peso corporal en el modelo de ratón DIO tras el suministro de 4,0 nmol/kg de moléculas (Fc/Fc)-GDF15

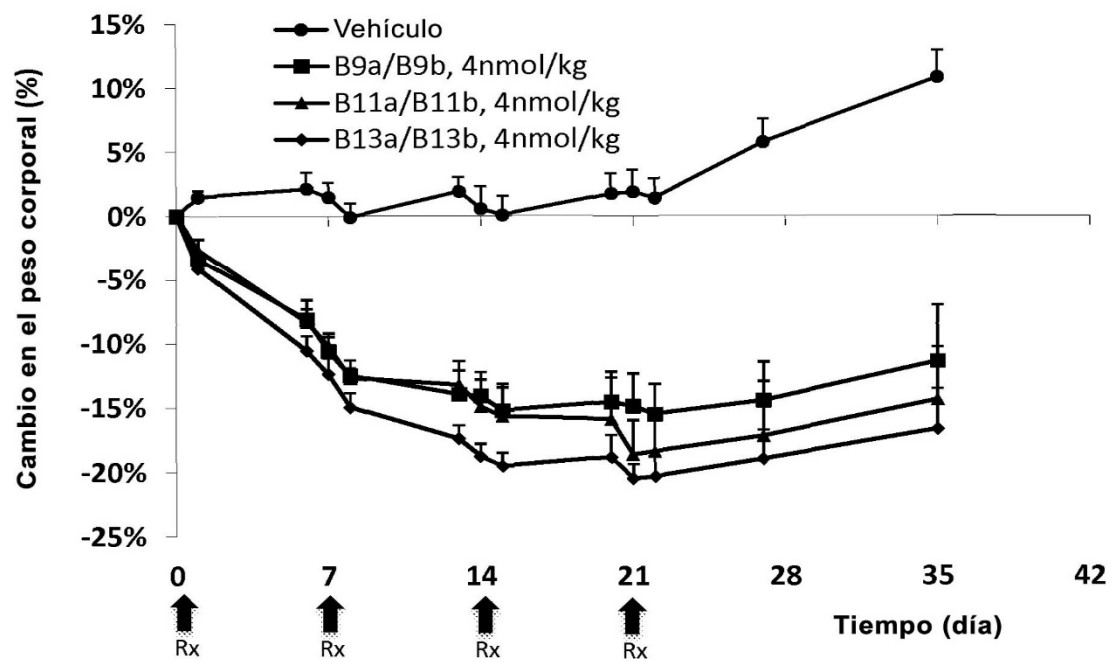


Figura 7 - Peso corporal (g) en ratón 010 para cada punto de tiempo para 0,4 nmol/kg y 4,0 nmol/kg de moléculas (Fc/Fc)-GDF15

	D 0	D1	D6	D7	D8	D13	D14	D15	D20	D21	D22	D27	D35
Vehículo	35,9	36,4	36,6	36,4	35,9	36,6	36,1	35,9	36,5	36,6	36,4	37,9	39,8
B9a/B9b 0.4nmol/kg	37,0	36,4	34,7	34,0	33,4	33,0	32,8	32,2	32,7	32,4	32,2	33,7	35,5
B9a/B9b 4nmol/kg	37,4	36,2	34,4	33,5	32,8	32,3	32,2	31,8	32,1	32,0	31,7	32,1	33,4
B11a/B11b 0.4nmol/kg	36,9	36,5	34,5	34,2	33,5	33,3	32,9	32,7	33,0	33,0	33,0	34,1	35,3
B11a/B11b 4nmol/kg	37,0	36,0	34,0	33,3	32,3	32,1	31,5	31,2	31,1	30,1	30,2	30,6	31,6
B13a/B13b 0.4nmol/kg	37,2	36,8	35,0	34,2	33,5	32,7	32,2	31,8	31,2	30,7	30,4	30,2	31,2
B13a/B13b 4nmol/kg	37,4	35,9	33,6	32,9	31,9	31,0	30,5	30,2	30,4	29,8	29,9	30,4	31,2

SEM	D 0	D1	D6	D7	D8	D13	D14	D15	D20	D21	D22	D27	D35
Vehículo	1,77	1,72	1,81	1,87	1,78	1,74	1,92	1,84	1,89	1,82	1,76	1,87	2,04
B9a/B9b 0.4nmol/kg	1,58	1,58	1,30	1,17	1,13	0,91	0,93	0,99	1,16	1,21	1,23	1,39	2,01
B9a/B9b 4nmol/kg	2,32	2,35	2,27	2,12	2,14	2,39	2,37	2,35	2,47	2,63	2,51	2,61	3,15
B11a/B11b 0.4nmol/kg	0,59	0,58	0,52	0,47	0,45	0,77	0,69	0,82	1,15	1,23	1,35	1,69	2,15
B11a/B11b 4nmol/kg	1,70	1,78	1,89	1,76	1,65	1,69	1,76	1,76	1,81	1,72	1,68	1,93	1,87
B13a/B13b 0.4nmol/kg	1,69	1,80	1,81	1,64	1,55	1,44	1,33	1,36	1,21	1,09	1,02	1,07	1,17
B13a/B13b 4nmol/kg	1,70	1,75	1,96	1,94	1,87	1,70	1,66	1,69	1,71	1,64	1,63	1,71	1,97

Figura 8- Cambio de peso corporal total (g) en el modelo de ratón 010 para cada punto de tiempo para 0,4 nmol/kg y 4,0 nmol/kg de moléculas (Fc/Fc)-GDF15

	D 0	D1	D6	D7	D8	D13	D14	D15	D20	D21	D22	D27	D35
Vehículo	0,0	0,5	0,8	0,5	0,0	0,7	0,2	0,0	0,6	0,7	0,5	2,1	3,9
B9a/B9b 0,4nmol/kg	0,0	-0,6	-2,3	-3,0	-3,6	-4,0	-4,2	-4,8	-4,3	-4,6	-4,8	-3,3	-1,5
B9a/B9b 4nmol/kg	0,0	-1,2	-3,0	-4,0	-4,6	-5,1	-5,2	-5,6	-5,3	-5,4	-5,7	-5,3	-4,1
B11a/B11b 0,4nmol/kg	0,0	-0,4	-2,4	-2,8	-3,4	-3,7	-4,1	-4,2	-4,0	-3,9	-3,9	-2,9	-1,6
B11a/B11b 4nmol/kg	0,0	-1,0	-3,0	-3,7	-4,7	-4,9	-5,5	-5,8	-5,9	-6,9	-6,8	-6,4	-5,4
B13a/B13b 0,4nmol/kg	0,0	-0,4	-2,2	-3,1	-3,7	-4,6	-5,0	-5,5	-6,0	-6,5	-6,8	-7,0	-6,0
B13a/B13b 4nmol/kg	0,0	-1,5	-3,9	-4,5	-5,5	-6,5	-7,0	-7,3	-7,0	-7,6	-7,6	-7,1	-6,2

SEM	D 0	D1	D6	D7	D8	D13	D14	D15	D20	D21	D22	D27	D35
Vehículo	0,00	0,16	0,43	0,38	0,37	0,38	0,60	0,50	0,53	0,59	0,53	0,61	0,77
B9a/B9b 0,4nmol/kg	0,00	0,21	0,48	0,59	0,75	1,06	1,08	1,14	1,38	1,30	1,44	1,31	1,54
B9a/B9b 4nmol/kg	0,00	0,17	0,53	0,47	0,46	0,58	0,58	0,68	0,79	0,80	0,76	1,02	1,51
B11a/B11b 0,4nmol/kg	0,00	0,22	0,35	0,52	0,47	0,45	0,50	0,60	0,86	0,91	0,99	1,43	1,88
B11a/B11b 4nmol/kg	0,00	0,30	0,31	0,34	0,26	0,69	0,77	0,82	1,22	1,03	1,22	1,60	1,58
B13a/B13b 0,4nmol/kg	0,00	0,34	0,65	0,84	0,80	0,92	1,01	0,91	1,07	1,12	1,16	1,31	1,62
B13a/B13b 4nmol/kg	0,00	0,13	0,34	0,37	0,29	0,31	0,29	0,31	0,62	0,36	0,57	0,83	1,13

Prueba t independiente	D 0	D1	D6	D7	D8	D13	D14	D15	D20	D21	D22	D27	D35
Vehículo													
B9a/B9b 0,4nmol/kg		**	***	***	**	**	**	**	**	**	**	**	*
B9a/B9b 4nmol/kg		***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B11a/B11b 0,4nmol/kg		**	***	***	***	***	***	***	**	**	**	**	*
B11a/B11b 4nmol/kg		**	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B13a/B13b 0,4nmol/kg		*	**	**	**	***	**	***	***	***	***	***	***
B13a/B13b 4nmol/kg		***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***

Figura 9 - Porcentaje de reducción del peso corporal (%) en el ratón DIO para cada punto de tiempo para 0,4 nmol/kg y 4,0 nmol/kg de moléculas (Fc/Fc)-GDF15

	D 0	D1	D6	D7	D8	D13	D14	D15	D20	D21	D22	D27	D35
Vehículo	0,0%	1,5%	2,2%	1,5%	0,0%	2,0%	0,6%	0,1%	1,8%	1,9%	1,4%	5,8%	10,8%
B9a/B9b 0,4nmol/kg	0,0%	-1,6%	-6,0%	-7,9%	-9,5%	-10,3%	-11,0%	-12,6%	-11,0%	-12,1%	-12,6%	-8,4%	-4,0%
B9a/B9b 4nmol/kg	0,0%	-3,3%	-8,1%	-10,6%	-12,4%	-13,9%	-14,1%	-15,2%	-14,5%	-14,8%	-15,5%	-14,4%	-11,4%
B11a/B11b 0,4nmol/kg	0,0%	-1,1%	-6,4%	-7,4%	-9,2%	-9,9%	-11,0%	-11,4%	-10,8%	-10,6%	-10,7%	-7,9%	-4,5%
B11a/B11b 4nmol/kg	0,0%	-2,6%	-8,3%	-10,2%	-12,6%	-13,2%	-14,9%	-15,6%	-15,9%	-18,6%	-18,4%	-17,2%	-14,4%
B13a/B13b 0,4nmol/kg	0,0%	-1,1%	-6,0%	-8,2%	-9,9%	-12,2%	-13,2%	-14,5%	-15,9%	-17,1%	-17,9%	-18,4%	-15,5%
B13a/B13b 4nmol/kg	0,0%	-4,1%	-10,5%	-12,3%	-14,9%	-17,4%	-18,8%	-19,5%	-18,8%	-20,5%	-20,3%	-19,0%	-16,7%

SEM	D 0	D1	D6	D7	D8	D13	D14	D15	D20	D21	D22	D27	D35
Vehículo	0,00%	0,48%	1,27%	1,14%	1,10%	1,10%	1,77%	1,48%	1,56%	1,69%	1,52%	1,77%	2,09%
B9a/B9b 0,4nmol/kg	0,00%	0,60%	1,25%	1,45%	1,86%	2,65%	2,63%	2,77%	3,46%	3,24%	3,58%	3,49%	4,29%
B9a/B9b 4nmol/kg	0,00%	0,58%	1,53%	1,13%	1,19%	1,85%	1,86%	2,09%	2,36%	2,52%	2,35%	3,01%	4,37%
B11a/B11b 0,4nmol/kg	0,00%	0,59%	0,89%	1,29%	1,16%	1,23%	1,32%	1,63%	2,38%	2,54%	2,77%	3,94%	5,16%
B11a/B11b 4nmol/kg	0,00%	0,86%	1,00%	1,00%	0,76%	1,83%	2,09%	2,25%	3,23%	2,68%	3,13%	4,24%	4,09%
B13a/B13b 0,4nmol/kg	0,00%	0,92%	1,82%	2,12%	1,98%	2,22%	2,35%	2,14%	2,46%	2,46%	2,55%	3,04%	3,97%
B13a/B13b 4nmol/kg	0,00%	0,44%	1,15%	1,22%	1,11%	1,03%	0,96%	1,04%	1,72%	1,13%	1,57%	2,24%	3,15%

Prueba t independiente	D 0	D1	D6	D7	D8	D13	D14	D15	D20	D21	D22	D27	D35
Vehículo													
B9a/B9b 0,4nmol/kg		**	***	***	**	**	**	**	**	**	**	**	*
B9a/B9b 4nmol/kg		***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B11a/B11b 0,4nmol/kg		**	***	***	***	***	***	***	***	***	**	*	*
B11a/B11b 4nmol/kg		**	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B13a/B13b 0,4nmol/kg		*	**	**	**	***	***	***	***	***	***	***	***
B13a/B13b 4nmol/kg		***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***