



19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 363 023**

51 Int. Cl.:

**A61K 39/395** (2006.01) **A61K 38/34** (2006.01)  
**C07K 14/68** (2006.01) **C07K 14/725** (2006.01)  
**C07K 16/46** (2006.01) **C12N 5/10** (2006.01)  
**C12N 15/11** (2006.01) **C12N 15/16** (2006.01)  
**C12N 15/62** (2006.01) **C12N 15/86** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **05819741 .9**

96 Fecha de presentación : **25.10.2005**

97 Número de publicación de la solicitud: **1812046**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **01.08.2007**

54

Título: **Mimeticuerpos de unión a receptor de melanocortina, composiciones, procedimientos y usos.**

30

Prioridad: **25.10.2004 US 621960 P**

45

Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**19.07.2011**

45

Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**19.07.2011**

73

Titular/es: **CENTOCOR ORTHO BIOTECH Inc.**  
**800/850 Ridgeview Drive**  
**Horsham, Pennsylvania 19044, US**

72

Inventor/es: **Cunningham, Mark;**  
**Stojanovic-Susulic, Vedrana;**  
**O'Neil, Karyn;**  
**Huang, Chichi y**  
**Luo, Jeffrey**

74

Agente: **Carpintero López, Mario**

ES 2 363 023 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

Mimeticuerpos de unión a receptor de melanocortina, composiciones, procedimientos y usos

### Campo de la Invención

5 La presente invención se refiere a mimeticuerpos de unión a receptor de melanocortina, polinucleótidos que los codifican, células que comprenden los polinucleótidos o que expresan los mimeticuerpos y procedimientos para preparar y usar los anteriores.

### Antecedentes de la Invención

10 La obesidad es una enfermedad crónica manifestada por un exceso de masa grasa en proporción al tamaño corporal. En la actualidad, uno de cada tres americanos se considera con sobrepeso (Índice de Masa Corporal (BMI) >25 kg/m<sup>2</sup>), instando por ello a los Centros de Estados Unidos para Control y Prevención de Enfermedades (CDC) a declarar que la obesidad está alcanzando proporciones epidémicas (Cummings y Schwartz, Annu. Rev. Med. 54: 453-471((2003)). La importancia de tratar la obesidad se enfatiza por el hecho de que esta enfermedad es la causa subyacente o un factor de riesgo, para el desarrollo de enfermedades tales como Diabetes Tipo 2, insuficiencia cardiaca congestiva, osteoartritis y apnea del sueño entre otros.

15 Adicionalmente, la obesidad está ligada a "Síndrome Metabólico" que es una afección médica caracterizada por obesidad, dislipidemia aterogénica, presión sanguínea elevada y resistencia a insulina. El Síndrome Metabólico afecta a un número creciente de personas en los Estados Unidos. De forma importante, se ha mostrado que incluso una disminución modesta en el peso corporal (5-10% del peso corporal inicial) puede mejorar significativamente las afecciones de Síndrome Metabólico y disminuir los factores de riesgo para desarrollar enfermedad asociada a  
20 obesidad (Wing y col., Arch. Intern. Med. 147: 1749-1753 (1987); Tuomilehto y col., New Engl. J. Med. 344: 1343-1350 (2001); Knowler y col., New Engl. J. Med. 346: 393-403 (2002); Franz y col., Diabetes Care 25: 148-198 (2002)). Adicionalmente, el tratamiento de la obesidad puede ser importante desde una perspectiva de salud mental debido al estigma social que con frecuencia está unido a individuos obesos en algunas culturas.

25 Los receptores de melanocortina desempeñan un papel principal en la regulación del equilibrio energético global y la obesidad en humanos y roedores. La hormona estimuladora de alfa melanocitos (alfa-MSH) es una hormona peptídica de 13 aminoácidos que es un componente importante del sistema de melanocortina. Alfa-MSH se produce por el procesamiento proteolítico de proopiomelanocortina (POMC) liberada por la glándula hipófisis. Alfa-MSH se une con alta afinidad al receptor de melanocortina 4 (MC4R), pero también se une al receptor de melanocortina 3 (MC3R) y receptor de melanocortina 5 (MC5R) con menor afinidad. MC4R es un receptor de proteína acoplado a G  
30 hallado en el cerebro que, cuando se estimula por unión con alfa-MSH, causa una disminución de la ingesta de comida y aumento de la oxidación de grasas. En última instancia, la estimulación de los receptores de melanocortina tales como MC4R da como resultado pérdida de peso.

35 En humanos y roedores, las mutaciones de pérdida de función en los diferentes componentes del sistema de melanocortina están estrechamente relacionadas con la obesidad y afecciones relacionadas. En ratones, las mutaciones dentro de POMC o MC4R y MC3R producen obesidad, resistencia a insulina e hiperfagia (Goodfellow y Saunders, Curr. Topics Med. Chem. 3: 855-883 (2003); Huszar y col., Cell 88: 131-141 (1997); Yaswen y col., Nat. Med. 5: 1066-1070 (1999)). En el hombre las mutaciones dentro de POMC o MC4R conducen al desarrollo de obesidad asociada con ingesta de alimentos aumentada (Krude y col., Nat. Genet. 19: 155-157 (1998); Yeo y col., Nature Genetics 20: 111-112 (1998); Branson y col., New Engl. J. Med. 348: 1096-1103 (2003); Vaisse y col., J. Clin. Invest. 106: 253-262 (2000); Ho y MacKenzie, J. Biol. Chem. 275: 35816-35822 (1999)).

40 La pérdida de peso puede resultar de la estimulación farmacológica de la actividad del sistema de melanocortina. En roedores la estimulación farmacológica de receptores de melanocortina tales como MC4R conduce a una disminución de la ingesta de comida, aumento del gasto de energía y pérdida de peso (Pierroz y col., Diabetes 51: 1337-1345 (2002)). En el hombre la administración intranasal de alfa-MSH para estimular MC4R en hombres no obesos da como resultado una disminución del peso corporal debido a la pérdida de grasa pero no de masa corporal magra (Fehm y col., J. Clin. Endo. Metabol. 86: 1144-1148 (2001)).

45 La obesidad actualmente se trata, solo con éxito limitado, por varias estrategias diferentes. Estas estrategias principalmente implican cambios de "estilo de vida" (por ejemplo dieta y ejercicio), terapias farmacéuticas basadas en moléculas pequeñas o retirada quirúrgica de una parte del estómago (cirugía de derivación gástrica). Adicionalmente, los péptidos de unión a receptor de melanocortina estimuladores de pérdida de peso tales como alfa-MSH son de uso limitado como agentes farmacéuticos debido a la semivida extremadamente corta en suero de tales péptidos. Por lo tanto, existe una necesidad para tratamientos de obesidad adicionales y en particular para moléculas de unión a receptor de melanocortina que superen la corta semivida en suero de los péptidos de unión a receptor de melanocortina tales como alfa-MSH.

### 55 Breve Descripción de los Dibujos

La Figura 1 muestra elementos de un polipéptido de mimeticuerpo de unión a receptor de melanocortina,

La Figura 2 muestra un dibujo de un mimeticuerpo de unión a receptor de melanocortina.

La Figura 3 muestra las secuencias de aminoácidos (SEC ID N°: 62) y ADNc (SEC ID N°: 61) de un mimeticuerpo de alfa-MSH de unión al receptor de melanocortina. Las partes aminotermiales de elementos mimeticuerpos individuales están subrayadas.

5 La Figura 4 muestra unión de mimeticuerpo de alfa-MSH a MC4R en un ensayo de unión competitiva.

La Figura 5 muestra activación de mimeticuerpo de alfa-MSH de MC4R en células que expresan un alto nivel de MC4R.

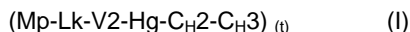
La Figura 6 muestra la activación de mimeticuerpo de alfa-MSH de MC4R en células que expresan un bajo nivel de MC4R.

10 La Figura 7 muestra disminución mediada por mimeticuerpo de alfa-MSH en ingesta de comida animal.

La Figura 8 muestra disminución mediada por el mimeticuerpo de alfa-MSH en peso corporal animal.

### **Sumario de la Invención**

Un aspecto de la invención es un polipéptido de acuerdo con fórmula (I):



15 en la que Mp es una molécula de unión a receptor de melanocortina, Lk es engarce químico o polipeptídico, V2 es una parte de un extremo C terminal de una región variable de inmunoglobulina, Hg es al menos una parte de una región bisagra variable de inmunoglobulina, C<sub>H2</sub> es una región constante C<sub>H2</sub> de cadena pesada de inmunoglobulina y C<sub>H3</sub> es una región constante C<sub>H3</sub> de cadena pesada de inmunoglobulina y t es de forma independiente un número entero de 1 a 10.

20 Otro aspecto de la invención es un polipéptido en el que Mp es un fragmento biológicamente activo de SEC ID N°: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16 ó 18; o Mp tiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEC ID N°: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16 ó 18.

Otro aspecto de la invención es un polipéptido, uniéndose el polipéptido al menos a un receptor de melanocortina.

Otro aspecto de la invención es un polipéptido que comprende SEC ID N°: 60 ó 62.

25 Otro aspecto de la invención es un polinucleótido que comprende SEC ID N°: 59 o SEC ID N°: 61 o un polinucleótido complementario a SEC ID N°: 59 o SEC ID N°: 61.

Otro aspecto de la invención es un polinucleótido que comprende un polinucleótido que codifica el polipéptido de SEC ID N°: 60 o SEC ID N°: 62.

Otro aspecto de la invención es un polipéptido de la invención para su uso en medicina.

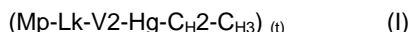
30 Otro aspecto de la invención es un polipéptido de la invención para modular al menos una afección mediada por receptor de melanocortina.

### **Descripción Detallada de la Invención**

La presente invención proporciona polipéptidos que tienen las propiedades de unión a receptor de melanocortina y mimetizar diferentes isotipos de molécula de inmunoglobulina de anticuerpos tales como IgA, IgD, IgE, IgG o IgM y cualquier subclase de las mismas, tales como IgA<sub>1</sub>, IgA<sub>2</sub>, 1<sub>g</sub>G<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub>, IgG<sub>3</sub> o IgG<sub>4</sub>, o combinaciones de las mismas, denominadas generalmente en lo sucesivo en el presente documento "mimeticuerpos". En algunas realizaciones, los polipéptidos mimeticuerpos de la invención contienen una secuencia de péptido hormonal estimulante de alfa melanocitos (alfa-MSH) y se designa mimeticuerpo de alfa-MSH de unión a receptor de melanocortina: Tales polipéptidos mimeticuerpos de alfa-MSH pueden unirse al receptor de melanocortina 4 (MC4R) y, con igual o menor afinidad, con MC3R y MC5R respectivamente. Un resultado de dicha unión a receptor de melanocortina puede ser la estimulación o inhibición de la actividad del receptor de melanocortina. La estimulación puede causar pérdida de peso mientras que la inhibición puede causar ganancia de peso.

40

En una realización los polipéptidos de la invención tienen la fórmula genérica (I):



45 en la que Mp es una molécula de unión a receptor de melanocortina, Lk es engarce químico o polipeptídico, V2 es una parte de un extremo C terminal de una región variable de inmunoglobulina, Hg es al menos una parte de una región bisagra variable de inmunoglobulina, C<sub>H2</sub> es una región constante C<sub>H2</sub> de cadena pesada de inmunoglobulina y C<sub>H3</sub> es una región constante C<sub>H3</sub> de cadena pesada de inmunoglobulina y t es de forma independiente un número entero de 1 a 10.

50 Como se usa en el presente documento, "molécula de unión a receptor de melanocortina" significa una molécula que puede unirse al menos a un receptor de melanocortina tal como MC4R de *Homo sapiens* (SEC ID N°: 77). Los ejemplos de otros receptores de melanocortina de *Homo sapiens* incluyen MCR1 (SEC ID N°: 71), MCR2 (SEC ID

Nº: 73), MCR3 (SEC ID Nº: 75) y MCR5 (SEC ID Nº: 79). Una cadena peptídica dada es un “receptor de melanocortina” si tiene al menos una identidad de secuencia de aminoácidos del 85% con una secuencia de receptor de melanocortina conocida o la forma madura de un receptor de melanocortina conocido y puede actuar como un receptor acoplado a proteína G. El porcentaje de identidad entre dos cadenas peptídicas puede determinarse por alineamiento por parejas usando los ajustes por defecto del módulo AlignX de Vector NTI versión 9.0.0 (Invitrogen Corp., Carlsbad, CA). Una molécula de unión a receptor de melanocortina ejemplar es el péptido de alfa-MSH de 13 aminoácidos que tiene la secuencia de aminoácidos mostrada en (SEC ID Nº: 2). Otras moléculas de unión a receptor de melanocortina incluyen fragmentos biológicamente activos de SEC ID Nº: 2 y otras secuencias de aminoácidos que pueden unirse a un receptor de melanocortina. La expresión “fragmento biológicamente activo” como se usa en el presente documento, se refiere a una parte de un péptido de alfa-MSH que puede unirse con un receptor de melanocortina tal como MC4R. La secuencia peptídica HFRW (SEC ID Nº: 81) es un “fragmento biológicamente activo” ejemplar de la secuencia peptídica alfa-MSH SYSMEHFRWVGKPV (SEC ID Nº: 2). El fragmento HFRW se ha incorporado en la estructura de la molécula activadora del receptor de melanocortina sintética melanotan II (MTII) (Fan y col., Nature 385: 165-168 (1997)).

La incorporación de moléculas de unión al receptor de melanocortina en los polipéptidos mimeticuerpos de la invención posibilita la unión a receptores de melanocortina con un amplio intervalo de afinidades. Los polipéptidos mimeticuerpos de la invención pueden unirse a un receptor de melanocortina con una  $K_d$  menor o igual a aproximadamente  $10^{-7}$ ,  $10^{-8}$ ,  $10^{-9}$ ,  $10^{-10}$ ,  $10^{-11}$  ó  $10^{-12}$  M. El intervalo de valores de  $CI_{50}$  obtenidos para un péptido aMSH, péptido MTII y MSHMMB fueron 260-400 nM, 5-30 nM y 200-300 nM respectivamente. La afinidad de un polipéptido mimeticuerpo por un receptor de melanocortina puede determinarse experimentalmente usando cualquier procedimiento adecuado. Tales procedimientos pueden utilizar instrumentación Biacore o KinExA, ensayos de ELISA o de unión competitiva. Los polipéptidos mimeticuerpos que se unen específicamente a receptores de melanocortina con una afinidad deseada pueden seleccionarse de bibliotecas de variantes o fragmentos por técnicas conocidas para los expertos en la materia.

Un péptido alfa-MSH que tiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEC ID Nº: 2 puede modificarse para obtener otras moléculas de unión a receptor de melanocortina. Tales modificaciones pueden comprender la incorporación de motivos C-[X]<sub>n</sub>-C en el péptido para restringir de forma conformacional el péptido a través de la formación de enlaces disulfuro. En un motivo C-[X]<sub>n</sub>-C, C es un resto de cisteína, X es un resto de aminoácido y n es un número entero necesario para conseguir la restricción conformacional requerida. En este caso n puede ser desde 1 resto hasta 50. Se muestran secuencias peptídicas modificadas C-[X]<sub>n</sub>-C ejemplares en la SEC ID Nº: 4, 6, 8 y 10.

La modificación también puede comprender la comparación de un motivo Wa-[X]<sub>n</sub>-Wa en el péptido para restringir de forma conformacional el péptido a través de la formación de una cremallera de triptófano. En un motivo Wa-[X]<sub>n</sub>-Wa W es un resto de triptófano, X es un aminoácido, a es un número entero, habitualmente 2, pero que puede ser de 1 a 10, y n es un número entero necesario para conseguir la restricción conformacional requerida. En este caso n puede ser desde 1 resto hasta 50. Se muestran péptidos Wa-[X]<sub>n</sub>-Wa ejemplares en SEC ID Nº: 12, 14, 16 y 18. Además, la secuencia HFRW (SEC ID Nº: 81) presente en el péptido alfa-MSH también pueden modificarse sustituyendo cualquier resto en esta secuencia por uno cualquiera de F, H, W y M; por ejemplo, HFRW (SEC ID Nº: 81) pueden sustituirse por FHWM (SEC ID Nº: 83).

En los polipéptidos de la invención, la parte de engarce (Lk) proporciona flexibilidad estructural permitiendo al mimeticuerpo tener propiedades de unión y orientaciones alternativas. Los engarces ejemplares incluyen engarces químicos no peptídicos o de uno a 20 aminoácidos unidos por enlaces peptídicos, seleccionándose los aminoácidos de los 20 aminoácidos de origen natural u otros aminoácidos (por ejemplo aminoácidos D, aminoácidos de origen no natural o aminoácidos de origen natural poco habituales). La parte de engarce puede incluir una mayoría de aminoácidos que no tienen impedimento estérico, tales como glicina, alanina y serina y puede incluir GS, poli GS (por ejemplo GSGS (SEC ID Nº: 20)), GGSG (SEC ID Nº: 22), GSGGGS (SEC ID Nº: 24), GSGGGSG (SEC ID Nº: 26), GSSG (SEC ID Nº: 28), o GSGGGS (SEC ID Nº: 30) o GGGS (SEC ID Nº: 85) o cualquier combinación o polímero de los mismos. Otros engarces ejemplares dentro del alcance de la invención pueden ser mayores de 20 restos y pueden incluir restos distintos de glicina, alanina y serina.

En los polipéptidos de la invención, V2 es una parte de un dominio carboxi terminal de una región variable de inmunoglobulina tal como una región variable de cadena pesada. Las secuencias de aminoácidos V2 ejemplares son GTLTVVSS (SEC ID Nº: 32) y TLVAVSS (SEC ID Nº: 34).

En los polipéptidos de la invención, Hg es una parte del domino de bisagra de una región variable de inmunoglobulina tal como una región variable de cadena pesada. Las secuencias de aminoácidos de Hg ejemplares incluyen EPKSCDKTHTCPPCP (SEC ID Nº: 36), EPKSADKTHHTCPPCP (SEC ID Nº: 38), ESKYGPPCPSCP (SEC ID Nº: 40), ESKYGPPCPPCP (SEC ID Nº: 42), CPPCP (SEC ID Nº: 44) y CPSC (SEC ID Nº: 46).

En los polipéptidos de la invención, C<sub>H2</sub> es una región constante C<sub>H2</sub> de cadena pesada de inmunoglobulina. Las secuencias de aminoácidos de C<sub>H2</sub> ejemplares incluyen:

APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS  
TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK (SEC ID N°: 48),

APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS  
TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK (SEC ID N°: 50),

APEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNS  
TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAK (SEC ID N°: 52)

y

APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNS  
TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAK (SEC ID N°: 54).

En los polipéptidos de la invención, C<sub>H3</sub> es una región constante C<sub>H3</sub> de cadena pesada de inmunoglobulina. Las secuencias de aminoácidos de C<sub>H3</sub> ejemplares incluyen:

GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS  
KLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEC ID N°: 56)

5 y

GQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS  
RLTVDKSRWQEGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGLK (SEC ID N°: 58).

se reconocerá por los expertos en la materia que la región C<sub>H3</sub> de los polipéptidos de la invención pueden tener su aminoácidos C terminal escindido cuando se expresan en ciertos sistemas recombinantes.

10 En los polipéptidos mimeticuerpos de la invención Hg, C<sub>H2</sub> o C<sub>H3</sub> pueden ser de la subclase IgG<sub>1</sub> o IgG<sub>4</sub>. Una secuencia es de la subclase IgG<sub>1</sub> o IgG<sub>4</sub> si se forma o desarrolla a partir de una cadena pesada  $\gamma$ 1 o  $\gamma$ 4 respectivamente. Una cadena peptídica dada es una cadena pesada  $\gamma$ 1 o  $\gamma$ 4 si es al menos 80% idéntica a una secuencia de cadena pesada  $\gamma$ 1 o  $\gamma$ 4 conocida de una especie dada. El porcentaje de identidad entre dos cadenas peptídicas puede determinarse por alineamiento en parejas usando los ajustes por defecto del módulo AlignX de Vector NTI v.9.0.0 (Invitrogen Corp., Carlsbad, CA).

15 En los polipéptidos mimeticuerpos de la invención Hg, C<sub>H2</sub> o C<sub>H3</sub> pueden ser individualmente de la subclase IgG<sub>1</sub> o IgG<sub>4</sub>. Los mimeticuerpos de la invención también pueden comprender combinaciones de elementos Hg, C<sub>H2</sub> o C<sub>H3</sub> de cada subclase. Por ejemplo, Hg puede ser de la subclase IgG<sub>4</sub> mientras que C<sub>H2</sub> y C<sub>H3</sub> son de la subclase IgG<sub>1</sub>. Como alternativa Hg, C<sub>H2</sub> y C<sub>H3</sub> pueden ser todos de la subclase IgG<sub>4</sub> o IgG<sub>1</sub>. El polipéptido  
20 EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE  
EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG  
FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK  
(SEC ID N°: 65) es ejemplar de un polipéptido en el que Hg (restos 1-15 de SEC ID N°: 65), C<sub>H2</sub> (restos 16-125 de SEC ID N°: 65) y C<sub>H3</sub> (restos 126-232 de SEC ID N°: 65) son todos de la subclase IgG<sub>1</sub>.

25 Las subclases IgG<sub>1</sub> e IgG<sub>4</sub> difieren en el número de cisteínas en la región bisagra. La mayoría de los anticuerpos de tipo IgG tales como IgG<sub>1</sub>, son moléculas homodiméricas compuestas de dos cadenas pesadas (H) idénticas y dos cadenas ligeras (L) idénticas típicamente abreviadas H<sub>2</sub>L<sub>2</sub>. De este modo, estas moléculas son generalmente bivalentes con respecto a unión a antígenos debido a la formación de enlaces disulfuro entre cadenas pesadas y ambas ramas de unión a antígeno (Fab) de la molécula de IgG tienen idéntica especificidad de unión. Las cadenas pesadas de isotipo IgG<sub>4</sub>, por el contrario, contienen un motivo CPSC (SEC ID N°: 46) en sus regiones bisagra capaz  
30 de formar enlaces disulfuro dentro de o entre las cadenas pesadas, es decir, los dos restos Cys en el motivo CPSC

pueden unirse por enlace disulfuro con los restos Cys correspondientes en la otra cadena H (inter) o los dos restos de Cys dentro de un motivo CPSC dado pueden unirse con enlace disulfuro entre sí (intra). Puesto que los pares de HL en esas moléculas IgG<sub>4</sub> con enlaces dentro de las cadenas pesadas en la región bisagra no están asociadas covalentemente entre sí, pueden disociarse en monómeros HL que se reasocian después con monómeros HL derivados de otras moléculas de IgG<sub>4</sub> que forma moléculas de IgG<sub>4</sub> heterodiméricas biespecíficas. Las enzimas isomerasa *in vivo* pueden facilitar este proceso. En un anticuerpo IgG biespecífico las dos "ramas" Fab de la molécula de anticuerpo difieren en los epítopos a los que se unen. La sustitución de restos de Ser en la región bisagra de IgG<sub>4</sub> con Pro da como resultado un "comportamiento de tipo IgG<sub>1</sub>", es decir, las moléculas forman enlaces disulfuro estables entre cadenas pesadas y, por lo tanto, no son susceptibles de intercambiar HL con otras moléculas de IgG<sub>4</sub>.

Los polipéptidos mimeticuerpos de la invención pueden hacerse más de tipo IgG<sub>4</sub> o tipo IgG<sub>1</sub> por la modificación de sitios que están implicados en la formación de enlaces disulfuro y están presentes en la parte Hg-C<sub>H2</sub>-C<sub>H3</sub> de los polipéptido mimeticuerpos. Tales sitios pueden modificarse por retirada, delección, inserción o sustitución con otros aminoácidos. Típicamente, los restos de cisteína presentes en motivos asociados a enlaces disulfuro se retiran o sustituyen. La retirada de estos sitios puede evitar la unión por enlaces disulfuro covalentes con otras proteínas que contienen cisteína presentes en la célula huésped productora de mimeticuerpos o unión por enlaces disulfuro dentro de cadenas pesadas en construcciones basadas en IgG<sub>4</sub> permitiendo aún la dimerización no covalente de dominios de mimeticuerpo Hg-C<sub>H2</sub>-C<sub>H3</sub>. La modificación de tales sitios puede permitir la formación de polipéptidos mimeticuerpos biespecíficos con dos partes M diferentes o evitar la formación de tales especies biespecíficas.

Las subclases IgG<sub>1</sub> e IgG<sub>4</sub> también difieren en su capacidad para mediar citotoxicidad dependiente de complemento (CDC) y citotoxicidad celular dependiente de anticuerpo (ADCC). CDC es el lisado de una célula diana en presencia de complemento. La ruta de activación de complemento se inicia por la unión del primer componente del sistema de complemento (C1q) con una molécula que forma complejo con un antígeno afín. IgG<sub>1</sub> es un inductor fuerte de la cascada de complemento y actividad de CDC posterior, mientras que IgG<sub>4</sub> tiene poca actividad inductora de complemento. ADCC es el procedimiento mediado por células en el que células citotóxicas no específicas que expresan receptores de Fc (FcR) implicados en ADCC (por ejemplo, células citolíticas (NK), neutrófilos y macrófagos) reconocen anticuerpo unido en una célula diana y posteriormente causan lisis de la célula diana. La subclase IgG<sub>1</sub> se une con alta afinidad a receptores de Fc implicados en ADCC y contribuye a ADCC, mientras que IgG<sub>4</sub> se une solamente de forma débil a tales receptores y tiene poca actividad inductora de ADCC. La incapacidad relativa de IgG<sub>4</sub> para activar funciones efectoras tales como ADCC es deseable puesto que es posible el suministro del polipéptido mimeticuerpo a células sin matar a la célula.

La actividad CDC y ADCC de los polipéptidos mimeticuerpos de la invención pueden modificarse alterando sitios implicados en CDC y ADCC presentes en la parte Hg-C<sub>H2</sub>-C<sub>H3</sub> del polipéptido mimeticuerpo. Tales sitios pueden modificarse por retirada, delección, inserción o sustitución con otros aminoácidos. En los mimeticuerpos de la invención los sitios implicados en CDC, tales como el sitio de unión a C1q, típicamente se retiran o se modifican de otro modo para minimizar la actividad de CDC. Adicionalmente, los sitios de unión a receptor de Fc implicados en ADCC pueden modificarse de forma similar en los mimeticuerpos de la invención. En general, dicha modificación retirará los sitios de unión a receptor de Fc implicados en la actividad ADCC de los mimeticuerpos de la invención. La sustitución de restos de Leu con restos de Ala en la parte C<sub>H2</sub> de los polipéptidos de la invención es un ejemplo de una modificación que puede minimizar la actividad ADCC en los polipéptidos de la invención. La secuencia de aminoácidos de C<sub>H2</sub> APEAAGGSPVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTK-PREEQYNS TYRVS SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK (SEC ID N°: 52) es ejemplar de una sustitución de Leu a Ala tal en los restos 4 y 5 (en la secuencia anterior). Además, el dominio V1 puede retirarse de modo que el extremo N terminal del péptido esté libre después de la escisión del péptido señal y es accesible a y podría modificarse por enzimas tales como acetilasas.

Los anticuerpos de los isotipos tanto IgG<sub>4</sub> como IgG<sub>1</sub> contienen sitios de unión al receptor de recuperación FcRn. El receptor de recuperación de FcRn ayuda a mantener los niveles de anticuerpo IgG en el cuerpo reciclando o transportando anticuerpos de tipo IgG a través de capas celulares endoteliales tales como las que revisten el interior de las cavidades corporales y vasos sanguíneos.

El receptor recuperador de FcRn hace esto uniendo IgG que han entrado en células endoteliales por pinocitosis no específica y evitando que estas moléculas de anticuerpo IgG se degraden en el lisosoma de la célula. El resultado de dicha actividad del receptor FcRn es que la semivida en suero de una molécula con un sitio de unión a FcRn se prolonga en relación con una molécula idéntica en lo demás que carece de dicho sitio.

Es deseable que la parte Hg-C<sub>H2</sub>-C<sub>H3</sub> de los mimeticuerpos de la invención contengan un sitio de unión de FcRn en el punto de unión de las regiones C<sub>H2</sub> y C<sub>H3</sub>. Se espera que tales sitios FcRn aumenten la semivida en suero de los mimeticuerpos de la invención así como que mejoren otras propiedades farmacocinéticas en relación con una molécula de unión a receptor de melanocortina, tal como alfa-MSH sola. En los mimeticuerpos de la invención los sitios de FcRn pueden modificarse o añadirse por retirada, delección, inserción o sustitución de aminoácidos. Típicamente, tales modificaciones se usan para mejorar la unión de un sitio dado al FcRn. Un ejemplo de sitio de unión a FcRn es la secuencia MISRTPTVLHQHNY (SEC ID N°: 69) hallada en anticuerpos IgG<sub>1</sub> e IgG<sub>4</sub>. Otros sitios de unión a FcRn se conocen bien por los expertos en la materia.

Los anticuerpos con diferentes isotipos, tales como IgG<sub>4</sub> e IgG<sub>1</sub>, pueden contener sitios de glucosilación. La glucosilación de estos sitios puede alterar las propiedades y actividades de moléculas de anticuerpo. Las moléculas de anticuerpo pueden estar N glucosiladas u O-glucosiladas. La N glucosilación de cadenas laterales de restos aminoacídicos de anticuerpo que contienen átomos de nitrógeno (por ejemplo Asn) pueden modular funciones efectoras de Fc de anticuerpo tales como ADCC confiriendo una actividad citolítica a moléculas de anticuerpo N glucosiladas. Esta actividad citolítica asociada a ADCC provoca la lisis de células efectuada por tales anticuerpos N glucosilados. Como alternativa, una molécula de anticuerpos puede estar O-glucosilada por modificación de cadenas laterales de restos de aminoácidos que contienen átomos de oxígeno (por ejemplo, Ser o Thr).

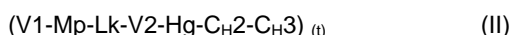
La O-glucosilación puede disminuir la semivida en suero de una molécula de anticuerpo a través de aumento del aclaramiento mediado por lectina de moléculas de anticuerpo O-glucosiladas del suero. Adicionalmente, la O glucosilación puede causar aumentos no deseables de la heterogeneidad de anticuerpos debido a diferentes alcances de la O glucosilación entre diversas moléculas de anticuerpo. Por último, tanto la O glucosilación como la N glucosilación pueden alterar las propiedades dependientes de estructura de moléculas de anticuerpos tales como afinidad de unión e inmunogenicidad.

Como las moléculas de anticuerpo que imitan, los polipéptidos mimeticuerpos de la invención también pueden modificarse postraduccionalmente por N glucosilación y O glucosilación. En la mayoría de los casos, es deseable limitar la N glucosilación de los mimeticuerpos de la invención para minimizar la actividad citolítica. La N glucosilación puede limitarse por la retirada o sustitución de restos aminoacídicos tales como Asn, que típicamente están N glucosilados. También es deseable limitar la O glucosilación de mimeticuerpos para minimizar el aclaramiento mediado por lectina, heterogeneidad de mimeticuerpos y la alteración de propiedades de mimeticuerpos dependientes de estructura tales como afinidad de unión e inmunogenicidad. Una forma de minimizar la glucosilación ligada a O en los mimeticuerpos de la invención es sustituir restos de Thr con restos de Ala en la parte V2 de los polipéptidos de la invención.

La secuencia de aminoácidos V2 TLVAVSS (SEC ID N°: 34) es ejemplar de una sustitución de Thr a Ala tal; esta sustitución de V2 particular también puede obtenerse por una sustitución de Thr a Ala en la posición 47 de SEC ID N°: 62. Los expertos en la materia también reconocerán otros modos para controlar la glucosilación ligada a N y ligada a O incluyendo modulación de actividad de enzima glucosilasa.

La estructura monomérica Mp-Lk-V2-Hg-C<sub>H2</sub>-C<sub>H3</sub> de los polipéptidos mimeticuerpos de la invención puede ligarse a "t" otros monómeros siendo t un número entero de 1 a 10. Dicho enlace puede producirse a través de interacciones no covalentes o enlaces covalentes tales como enlace disulfuro Cys-Cys. De este modo pueden formarse estructuras multiméricas tales como dímeros y multímeros de mayor orden de los polipéptidos de la invención. Se espera que la dimerización de los polipéptidos de la invención aumente la afinidad de estos polipéptidos por receptores de melanocortina tales como MC4R. El término "multímeros" como se usa en el presente documento significa moléculas que tienen estructura cuaternaria y están formadas por la asociación de dos o más subunidades.

Los polipéptidos de la invención pueden comprender opcionalmente en el extremo amino terminal, una parte amino terminal de una región variable de inmunoglobulina, designada V1 como se muestra en la Fórmula II:



Las secuencias de aminoácidos V1 ejemplares incluyen QIQ y QVQ.

Los polipéptidos de la invención también pueden comprender señales secretoras necesarias para facilitar la secreción de proteínas u otras señales necesarias para el tráfico de proteínas en la célula. Un ejemplo de secuencia señal secretora es MAWVWTLFLMAAAQSIQA (SEC ID N°: 69). Los expertos en la materia reconocerán otras señales secretoras.

En una realización los polipéptidos de la invención comprenden SEC ID N°: 60 ó 62. SEC ID N°: 62 representa un polipéptido alfa-MSH de unión a receptor de melanocortina (V1-Mp-Lk-V2-Hg-C<sub>H2</sub>-C<sub>H3</sub>)<sub>(t)</sub> de fórmula genérica (II) que tiene la señal secretora MAWVWTLFLMAAAQSIQA (SEC ID N°: 69) fusionada en su extremo amino terminal. La SEC ID N°: 60 representa un polipéptido alfa-MSH de unión a receptor de melanocortina (Mp-Lk-V2-Hg-C<sub>H2</sub>-C<sub>H3</sub>)<sub>(t)</sub> de la fórmula genérica (I). No está presente señal secretora en SEC ID N°: 60.

Otro aspecto de la presente invención es un polinucleótido que comprende, es complementario a o que tiene identidad significativa con, un polinucleótido que codifica al menos un mimeticuerpo de unión a receptor de melanocortina. Otros aspectos de la presente invención incluyen vectores que comprenden al menos una molécula polinucleotídica que codifica un mimeticuerpo de unión a receptor de melanocortina. En un aspecto diferente la invención proporciona una célula que comprende un vector de la invención o una célula que expresa un polipéptido mimeticuerpo de la invención. Los polinucleótidos, vectores y células pueden usarse para producir los polipéptidos mimeticuerpos de la invención.

En una realización, los polinucleótidos de la invención comprenden SEC ID N°: 59 o SEC ID N°: 61 o un polinucleótido complementario a SEC ID N°: 59 o SEC ID N°: 61. SEC ID N°: 59 es un ADNc que codifica un polipéptido alfa-MSH de unión a receptor de melanocortina (Mp-Lk-V2-Hg-C<sub>H2</sub>-C<sub>H3</sub>)<sub>(t)</sub> de la fórmula genérica (I) que

carece de una secuencia señal. SEC ID N°: 61 es un ADNc que codifica un polipéptido alfa-MSH de unión a receptor de melanocortina (V1-Mp-Lk-V2-Hg-C<sub>H</sub>2-C<sub>H</sub>3)<sup>(1)</sup> de la fórmula genérica (II) que tiene una señal secretora fusionada en su extremo amino terminal.

5 En una realización, los polinucleótidos de la invención comprenden un polinucleótido que codifica el polipéptido de SEC ID N°: 60 o SEC ID N°: 62. Las secuencias de ácidos nucleicos ejemplares que codifican las secuencias polipeptídicas mostradas en SEC ID N°: 60 o SEC ID N°: 62 se muestran en SEC ID N°: 59 o SEC ID N°: 61, respectivamente. También se proporcionan polinucleótidos que son sustancialmente idénticos a los polinucleótidos anteriormente descritos.

10 La expresión “sustancialmente idéntica” en el contexto de polinucleótidos significa que una secuencia polinucleotídica dada es idéntica a una secuencia polinucleotídica de la invención, o parte de la misma, en al menos 60%, al menos aproximadamente 70%, al menos aproximadamente 80%, al menos aproximadamente 90% o al menos aproximadamente 95-98% de los nucleótidos. El porcentaje de identidad entre dos secuencias polinucleotídicas puede determinarse por alineamiento por parejas usando los ajustes por efecto del módulo AlignX de Vector NTI v.9.0.0 (Invitrogen Corp., Carlsbad, CA).

15 Típicamente, los polinucleótidos de la invención se usan en vectores de expresión para la preparación de los polipéptidos mimeticuerpos de la invención. Los vectores dentro del alcance de la invención proporcionan elementos necesarios para expresión eucariota e incluyen vectores dirigidos por promotores virales, tales como vectores dirigidos por promotor de CMV, por ejemplo, pcDNA3.1, pCEP4 y sus derivados, vectores de expresión de Baculovirus, vectores de expresión de *Drosophila* y vectores de expresión que están dirigidos por promotores de genes de mamífero, tales como promotores de genes de Ig humanos. Otros ejemplos incluyen vectores de expresión procariontes, tales como vectores dirigidos por promotor T7, por ejemplo, pET41, vectores dirigidos por el promotor de la lactosa y vectores dirigidos por el promotor del gen de la arabinosa.

20

La presente invención también se refiere a una célula que expresa un mimeticuerpo de la invención o comprende un vector de la invención. Una célula tal puede ser procarionte o eucariota. Las células eucariotas ejemplares son células de mamífero, tales como, pero sin limitación, COS-1, COS-7, HEK293, BHK21, CHO, BSC-1, HepG2, 653, SP2/0, NS0 293, HeLa, células de mieloma, de linfoma o cualquier derivado de las mismas. Más preferentemente, la célula eucariota es una célula HEK293, NS0 SP2/0 o CHO. *E. coli* es una célula procarionte ejemplar. Una célula de acuerdo con la invención puede generarse por transfección, fusión celular, inmortalización o cualquier procedimiento que se conozca bien en la técnica. Los polinucleótidos transfectados en una célula pueden ser extracromosómicos o estar integrados de forma estable en el cromosoma de la célula.

25

30

Los mimeticuerpos de la invención pueden hacerse más compatibles con una célula huésped dada por modificación de la parte Hg-C<sub>H</sub>2-C<sub>H</sub>3 del polipéptido. Por ejemplo, cuando un mimeticuerpo de la invención se expresa de forma recombinante en una célula bacteriana tal como *E. coli*, la secuencia Pro-Ala en el elemento Hg puede retirarse para evitar la digestión por la enzima de *E. coli* prolina iminopeptidasa. De forma similar, una parte del elemento Hg puede delecionarse o sustituirse con otros aminoácidos en los mimeticuerpos de la invención para evitar heterogeneidad en los productos expresados en una célula huésped seleccionada.

35

La presente invención proporciona adicionalmente un procedimiento para producir un polipéptido mimeticuerpo que comprende las etapas de cultivar una célula de la invención y purificar un polipéptido mimeticuerpo expresado de la invención. Los componentes celulares, tales como los necesarios para transcripción y traducción *in vitro* también pueden usarse para expresar los polipéptidos de la invención. La presente invención abarca mimeticuerpos producidos por ambos procedimientos. Los polipéptidos mimeticuerpos expresados pueden recuperarse y purificarse de células o sistemas basados en componentes celulares por procedimientos bien conocidos en la técnica que incluyen, pero sin limitación, purificación de proteína A, precipitación de sulfato de amonio o etanol, extracción ácida, cromatografía de intercambio aniónico o catiónico, cromatografía de fosfocelulosa, cromatografía de interacción hidrófoba, cromatografía de afinidad, cromatografía de hidroxilapatita y cromatografía de lectina. También puede emplearse cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) para purificación. Típicamente la purificación requerirá una combinación de varios procedimientos diferentes.

40

45

Otro aspecto de la presente invención es una composición farmacéutica que comprende una cantidad eficaz de al menos un polipéptido mimeticuerpo y un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable. La expresión “cantidad eficaz” generalmente se refiere a la cantidad de mimeticuerpo necesaria para terapia eficaz, es decir, el alivio parcial o completo del síntoma o trastorno para el que se buscó tratamiento. La composición puede comprender opcionalmente al menos un compuesto, proteína o composición adicional útil para tratar la obesidad y las otras afecciones descritas posteriormente. El vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable en las composiciones puede ser una solución, suspensión, emulsión, coloide o polvo. Los expertos en la materia reconocerán otro vehículo y diluyentes farmacéuticamente aceptables.

50

55

Otro aspecto de la presente invención es un polipéptido de la invención para su uso en medicina. El polipéptido puede ser para su uso en un procedimiento para modificar la actividad biológica de un receptor de melanocortina en una célula, tejido u órgano que comprende poner en contacto las composiciones farmacéuticas de la invención con la célula, tejido u órgano. El polipéptido de la invención puede ser para su uso en un procedimiento para modificar la



actividad del receptor de melanocortina en el cerebro, tejido cerebral o células cerebrales. Como alternativa, el polipéptido de la invención puede ser para su uso en un procedimiento para modificar la actividad del receptor de melanocortina en otras células periféricas o tejidos tales como músculo, u otros órganos tales como el estómago. Los expertos en la materia reconocerán otras células, tejidos u órganos que pueden usarse.

- 5 Otro aspecto de la invención es un polipéptido de la invención para modular al menos una afección mediada por receptor de melanocortina que comprende administrar una composición farmacéutica de la invención a un paciente que la necesite. Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden administrarse por cualquier vía adecuada. Tales vías pueden ser intratecal, intranasal, periférica (por ejemplo, subcutánea, intramuscular, intradérmica, intravenosa) o por cualquier otro medio conocido en la técnica. Como se ha descrito previamente, se ha implicado
- 10 una actividad del receptor de melanocortina anómala en varias afecciones patológicas, tales como obesidad y diabetes Tipo 2. Los polipéptidos mimeticuerpos de la invención también pueden usarse para modular otras afecciones mediadas por receptor de melanocortina tales como disfunción eréctil masculina y femenina, inflamación, insuficiencia cardíaca congestiva, trastornos del sistema nervioso central, daño neuronal, enfermedad infecciosa, enfermedad pulmonar, enfermedad cutánea, fiebre y dolor.
- 15 La presente invención se describe adicionalmente con referencia a los siguientes ejemplos. Estos ejemplos son meramente para ilustrar aspectos de la presente invención y no se pretende que sean limitaciones de la presente invención.

### **Ejemplo 1**

#### **Mimeticuerpo de alfa-MSH y Construcción de Vector de Expresión**

- 20 Se diseñó una proteína mimeticuerpo de alfa-MSH que comprende una secuencia de señal secretora, una secuencia peptídica de alfa-MSH, una secuencia de engarce, una secuencia  $V_H$ , una secuencia bisagra, una secuencia  $C_H2$  de IgG<sub>1</sub> humana y una secuencia  $C_H3$  de IgG<sub>1</sub> humana (Figura 3 y SEC ID N°: 62). Los datos analíticos, por ejemplo, espectroscopía de masas, han confirmado que se genera un polipéptido maduro (61.344,6 para la forma G1/G1). Las secuencias de ácidos nucleicos que codifican esta proteína mimeticuerpo de alfa-MSH (Figura 3; SEC ID N°: 61)
- 25 se generaron usando técnicas de biología molecular convencionales. Las secuencias de ácido nucleico que codifican la secuencia de mimeticuerpo de alfa-MSH se subclonaron en el vector de expresión p2389 para generar un vector de expresión de mimeticuerpo de alfa-MSH (SEC ID N°: 63).

### **Ejemplo 2**

#### **Expresión de Mimeticuerpo de alfa-MSH**

- 30 El mimeticuerpo de alfa-MSH se expresó de forma transitoria en células HEK293E. Las células se cultivaron usando condiciones convencionales y se transfectaron de forma transitoria con el vector de expresión de mimeticuerpo de alfa-MSH usando Lipofectamine 2000 (Invitrogen, Carlsbad, CA) como se indica por el fabricante. 24 h después de la transfección se transfirieron las células a una formulación de medio sin suero y se cultivaron durante 5 días. El medio de cultivo se retiró después y se centrifugó para retirar los residuos. El medio clarificado se incubó con
- 35 Proteína A-Sepharose™ (HiTrap rProtein A FF, Amersham Biosciencias, Piscataway, NJ) y se eluyeron las proteínas del conjugado de Proteína A-Sepharose™ como se indicó por el fabricante. La solución de proteína eluida se purificó adicionalmente mediante cromatografía de exclusión por tamaño de Superose™ 12 (Superose 12 10/300 GL, Amersham Biosciencias, Piscataway, NJ) usando procedimientos convencionales. El eluyente de la columna se sometió después a SDS-PAGE y se visualizó por tinción de azul de Coomassie y plata. Se prepararon después
- 40 transferencias de Western y se ensayaron las manchas de transferencia con un anticuerpo primario específico de Fc o un anticuerpo primario específico de alfa-MSH. Juntos, los resultados de transferencia de Western y tinción de SDS-PAGE indicaron que se había obtenido un mimeticuerpo de alfa-MSH purificado, compuesto de dos cadenas polipeptídicas, de las células HEK293 transfectadas de forma transitoria.

### **Ejemplo 3**

#### **El Mimeticuerpo de alfa-MSH se Une a MC4R**

- 45 El mimeticuerpo de alfa-MSH se une a MC4R y puede competir con moléculas agonistas de [Nle(4), D-Phe(7)]-alfa-MSH (NDP-alfa-MSH) radiomarcadas por unión a MC4R (Figura 4). MC4R es un receptor para alfa-MSH. La unión de alfa-MSH con MC4R expresado de forma recombinante en membranas celulares de HEK293 (Perkin Elmer Life and Analytical Sciences, Boston, MA) se examinó por ensayos de unión competitiva en los que se añadieron
- 50 cantidades crecientes de agonistas de MC4R no marcados (controles positivos) y el dominio Fc de un anticuerpo humano (control negativo) a cócteles de ensayo que contenían [<sup>125</sup>I]-NDP-alfa-MSH como se indica en la Figura 4. Los agonistas de MC4R no marcados fueron melanotan II (MTII; un análogo de alfa MSH), alfa-MSH y NDP-alfa-MSH. El mimeticuerpo de alfa-MSH que se une a MC4R fue estable después de dos semanas de almacenamiento a 4°C, -20°C y -80°C en PBS (solución salina tamponada con fosfato) como se evaluó por ensayos de unión competitiva.
- 55

Se realizaron ensayos de unión competitiva usando Scintillation Proximity Assays® (Amersham Biosciencias Corp,

Piscataway, NJ) como se indicó por el fabricante del ensayo. Los cócteles de ensayo contenían [<sup>125</sup>I]-NDP-alfa-MSH a CE80, es decir, ~0,5 nM, 0,1 µg de membranas de MC4R, MgSO<sub>4</sub> 1 mM, CaCl<sub>2</sub> 1,5 mM, Hepes 25 mM, BSA 0,2%, 1,10-fentrolina 1 mM, una cantidad recomendada por el fabricante del ensayo de cóctel inhibidor de proteasa (Roche Diagnostics Corp., Indianapolis, IN) y perlas de SPA. Se midió la emisión de luz de las perlas de Scintillation Proximity Assay<sup>®</sup> con un Instrumento Packard Top Count NXT (Perkin Elmer Life and Analytical Sciences, Boston, MA) durante 5 minutos.

#### **Ejemplo 4**

##### **El Mimeticuerpo de alfa-MSH Activa MC4R**

El mimeticuerpo de alfa-MSH puede activar señalización de MC4R para aumentar la producción de AMPc en células CHOK1 que expresan MC4R (Figura 5 y Figura 6). MC4R es un receptor acoplado a proteína G de siete transmembranas (7TM). La activación de MC4R por ligando o agonista da como resultado un aumento de niveles de AMP cíclico (AMPc).

Los ensayos de activación del receptor MC4R se realizaron usando dos líneas celulares CHOK1 clonales diferentes transfectadas de forma estable con un vector de expresión de MC4R y que expresaban MC4R. El clon 1 (Figura 5) expresó MC4R a altos niveles en relación con el Clon 2 (Figura 6). Las células del Clon 1 y Clon 2 se cultivaron como una monocapa usando condiciones de cultivo convencionales hasta una densidad de aproximadamente 100.000 células/pocillo y después se incubaron con cantidades crecientes (0-100 µM) de alfa-MSH, MTII o mimeticuerpo de alfa-MSH durante 15 minutos como se indica en la Figura 5 y la Figura 6. Las células se lisaron después y se realizaron ensayos de AMPc usando el Sistema de Inmunoensayo Quimioluminiscente cAMP-Screen Direct™ (Applied Biosystems, Foster City, CA) como se indicó por el fabricante. Los valores de CE<sub>50</sub> de los ensayos de AMPc usando Clon 1 (Figura 5) y Clon 2 (Figura 6) se enumeran en la Tabla 1 a continuación

Tabla 1

	Clon 1	Clon 2
Péptido alfa-MSH (control positivo)	CE <sub>50</sub> = 3,29 nM	CE <sub>50</sub> = 9,46 nM
MT II (control positivo)	CE <sub>50</sub> = 0,52 nM	CE <sub>50</sub> = 0,52 nM
Mimeticuerpo de alfa-MSH	CE <sub>50</sub> = 14,36 nM	CE <sub>50</sub> = 52,4 nM

#### **Ejemplo 5**

##### **La Administración de Mimeticuerpo de alfa-MSH Reduce la Ingesta de Comida Animal y el Peso Corporal**

La administración de mimeticuerpo de alfa-MSH a ventrículos cerebrales de *Rattus norvegicus* reduce la ingesta de comida del animal (Figura 7) y el peso corporal (Figura 8). Se proporcionó mimeticuerpo de alfa-MSH a los ventrículos cerebrales por inyecciones intracerebroventriculares (ICV) mediante una cánula insertada quirúrgicamente en el ventrículo lateral izquierdo del cerebro.

Las cánulas se insertaron quirúrgicamente en ratas Sprague-Dawley o Wistar que pesaban de 250 g a 350 g. Las coordenadas de colocación de la cánula fueron como sigue: -0,8 mm del bregma, -4,5 mm ventral y -1,5 mm posterior-anterior. Los animales se recuperaron durante 7 a 10 días después de la cirugía. Los animales se aclimataron a los procedimientos experimentales por manipulación diaria e inyección de simulación, para minimizar la tensión. Además se sometió a los animales a la inversión del ciclo oscuridad-luz.

Se confirmó la colocación apropiada de la cánula por un ensayo de angiotensina II. El ensayo confirmó la colocación apropiada de la cánula si la administración ICV de 10 ng de angiotensina II mediante la cánula provocó que las ratas bebieran 5-10 ml de agua en 30 minutos. Solamente los animales que pasaron el ensayo de angiotensina II se usaron para experimentos de ingesta de comida.

Los animales se sometieron a ayuno durante 18-24 horas y se administraron después mimeticuerpo de alfa-MSH, alfa-MSH (control positivo) o PBS (control negativo) a los ventrículos cerebrales mediante la cánula a la tasa de inyección de 9 µl/minuto. Cada grupo de tratamiento tuvo un mínimo de 7 animales. Los tratamientos y dosificaciones fueron como se indican en la Figura 7 y la Figura 8.

Se proporcionó alimento y agua a los animales después de la inyección. La cantidad de alimento y agua consumida se midió a 0 h, 4 h, 24 h, 48 h y 72 h (Figura 7) después de la inyección. El peso corporal a las 72 horas después de la inyección se midió como se muestra en la Figura 8.

Habiéndose ahora descrito completamente la presente invención, resultará evidente para un experto en la materia que pueden realizarse muchos cambios y modificaciones a la misma sin alejarse del alcance de las reivindicaciones adjuntas.

LISTADO DE SECUENCIAS

- 5 <110> Centocor, Inc.
- <120> Mimetocuerpos de Unión a Receptor de Melanocortina, Composiciones, Procedimientos y Usos
- <130> CEN5080 PCT
- <140> A asignar
- <141> 25-10-2005
- 10 <150> 60/621.960
- <151> 25-10-2004
- <160> 85
- <170> PatetIn versión 3 - 2
- <210> 1
- 15 <211> 39
- <212> ADN
- <213> Homo sapiens
- <400> 1
- tctactcca tggagcactt ccgctggggc aagccggtg 39
- 20 <210> 2
- <211> 13
- <212> PRT
- <213> Homo sapiens
- <400> 2
- 25
- Ser Tyr Ser Met Glu His Phe Arg Trp Gly Lys Pro Val
- 1 5 10
- <210> 3
- <211> 39
- 30 <212> ADN
- <213> Secuencia artificial
- <220>
- <223> Péptido restringido
- <400> 3
- 35 agctatagct gCGaacattt tcgctggtgc aaaccggtg 39
- <210> 4

<211> 13

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

5 <223> Péptido restringido

<400> 4

Ser Tyr Ser Cys Glu His Phe Arg Trp Cys Lys Pro Val  
 1 5 10

10 <210> 5

<211> 39

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Péptido restringido

<400> 5

agctattgca tggaacattt tcgctggtgc aaaccggtg 39

<210> 6

<211> 13

20 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido restringido

<400> 6

25

Ser Tyr Cys Met Glu His Phe Arg Trp Cys Lys Pro Val  
 1 5 10

<210> 7

<211> 39

30 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido restringido

<400> 7

agctgcagca tggAACATT tcgctggtgc aaaccggtg 39

<210> 8

<211> 13

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido restringido

<400> 8

10 Ser Cys Ser Met Glu His Phe Arg Trp Cys Lys Pro Val  
1 5 10

<210> 9

<211> 39

<212> ADN

15 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido restringido

<400> 9

tgctatagca tggAACATT tcgctggggc tgcccgtg 39

20 <210> 10

<211> 13

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

25 <223> Péptido restringido

<400> 10

Cys Tyr Ser Met Glu His Phe Arg Trp Gly Cys Pro Val  
1 5 10

30 <210> 11

<211> 45

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

35 <223> Péptido restringido

<400> 11

agctggagct ggaacattt tcgctggggc aaatggacct ggaaa 45

<210> 12

<211> 15

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido restringido

<400> 12

10

Ser Trp Ser Trp Glu His Phe Arg Trp Gly Lys Trp Thr Trp Lys  
 1 5 10 15

<210> 13

<211> 51

<212> ADN

15 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido restringido

<400> 13

agctggagct gggcggaaca tttcgctgg ggcaaaggct ggacctggaa a 51

20 <210> 14

<211> 17

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

25 <223> Péptido restringido

<400> 14

Ser Trp Ser Trp Gly Glu His Phe Arg Trp Gly Lys Gly Trp Thr Trp  
 1 5 10 15

Lys

30 <210> 15

<211> 57

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido restringido

<400> 15

agctggagct ggggcggcga acatttcgc tggggcaaag gcggtggac ctggaaa 57

5 <210> 16

<211> 19

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> Péptido restringido

<400> 16

Ser Trp Ser Trp Gly Gly Glu His Phe Arg Trp Gly Lys Gly Gly Trp  
 1 5 10 15

Thr Trp Lys

15 <210> 17

<211> 57

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

20 <223> Péptido restringido

<400> 17

agctggagct ggagcatgga acatttcgc tggggcaaac cgggtggac ctggaaa 57

<210> 18

<211> 19

25 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido restringido

<400> 18

30

Ser Trp Ser Trp Ser Met Glu His Phe Arg Trp Gly Lys Pro Val Trp  
 1 5 10 15

Thr Trp Lys

<210> 19  
<211> 12  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
5 <220>  
<223> Péptido flexible  
<400> 19  
ggcagcggca gc 12  
<210> 20  
10 <211> 4  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial  
<220>  
<223> Péptido flexible  
15 <400> 20

Gly Ser Gly Ser  
1

<210> 21  
20 <211> 12  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
<220>  
<223> Péptido flexible  
25 <400> 21  
ggcggcagcg gc 12  
<210> 22  
<211> 4  
<212> PRT  
30 <213> Secuencia artificial  
<220>  
<223> Péptido flexible  
<400> 22

35 Gly Gly Ser Gly  
1



<210> 23  
 <211> 18  
 <212> ADN  
 5 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> Péptido flexible  
 <400> 23  
 ggcagcggcg gcggcagc 18  
 10 <210> 24  
 <211> 6  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 15 <223> Péptido flexible  
 <400> 24  
  
 Gly Ser Gly Gly Gly Ser  
 1 5  
 20 <210> 25  
 <211> 21  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 25 <223> Péptido flexible  
 <400> 25  
 ggcagcggcg gcggcagcgg c 21  
 <210> 26  
 <211> 7  
 30 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> Péptido flexible  
 <400> 26  
 35

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly  
 1 5

<210> 27

<211> 12

5 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido flexible

<400> 27

10 ggcagcagcg gc 12

<210> 28

<211> 4

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15 <220>

<223> Péptido flexible

<400> 28

Gly Ser Ser Gly  
 1

20

<210> 29

<211> 18

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

25 <220>

<223> Péptido flexible

<400> 29

ggcagcggcg gcggcagc 18

<210> 30

30 <211> 6

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido flexible

35 <400> 30

Gly Ser Gly Gly Gly Ser  
1 5

<210> 31

5 <211> 24

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 31

ggcacctgg tgaccgtgag cagc 24

10 <210> 32

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 32

15

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
1 5

<210> 33

<211> 21

20 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sustitución T → A para limitar glucosilación ligada a O

<400> 33

25 accctggtgg cggtagcag c 21

<210> 34

<211> 7

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

30 <220>

<223> Sustitución T → A para limitar glucosilación ligada a O

<400> 34

Thr Leu Val Ala Val Ser Ser  
1 5

<210> 35

<211> 45

<212> ADN

5 <213> Homo sapiens

<400> 35

gaaccgaaaa gctgcgataa aaccataacc tgcccgccgt gcccg 45

<210> 36

<211> 15

10 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 36

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

15

<210> 37

<211> 45

<212> ADN

<213> Homo sapiens

20 <400> 37

gaaccgaaaa ggcggataa aaccataacc tgcccgccgt gcccg 45

<210> 38

<211> 15

<212> PRT

25 <213> Homo sapiens

<400> 38

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

30 <210> 39

<211> 36

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 39

35 gaaagcaaat atgcccgcc gtgcccgagc tgcccg 36

<210> 40

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

5 <400> 40

Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro  
 1 5 10

<210> 41

10 <211> 36

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 41

gaaagcaaat atgcccgcc gtgcccgccg tgcccg 36

15 <210> 42

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 42

20

Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro  
 1 5 10

<210> 43

<211> 15

25 <212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 43

tgcccgccgt gcccg 15

<210> 44

30 <211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 44

Cys Pro Pro Cys Pro  
1 5

<210> 45

<211> 12

5 <212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 45

tgcccgagct gc 12

<210> 46

10 <211> 4

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 46

Cys Pro Ser Cys  
15 1

<210> 47

<211> 330

<212> ADN

20 <213> Homo sapiens

<400> 47

gcgccggaac tgctgggcgg cccgagcgtg tttctgtttc cgccgaaacc gaaagatacc	60
ctgatgatta gccgcacccc ggaagtgacc tgcgtggtgg tggatgtgag ccatgaagat	120
ccggaagtga aatttaa ctg gtatgtggat ggcgtggaag tgcataacgc gaaaaccaaa	180
ccgcgcgaag aacagta taa cagcacctat cgcgtggtga gcgtgctgac cgtgctgcat	240
caggattggc tgaacgg caa agaataaaa tgcaaagtga gcaacaaagc gctgccggcg	300
ccgattgaaa aaaccat tag caaagcga	330

25 <210> 48

<211> 110

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 48

ES 2 363 023 T3

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys  
 1 5 10 15

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val  
 20 25 30

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr  
 35 40 45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu  
 50 55 60

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His  
 65 70 75 80

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys  
 85 90 95

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys  
 100 105 110

<210> 49

5 <211> 330

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 49

gcgccggaag cggcgggcgg cccgagcgtg tttctgtttc cgccgaaacc gaaagat acc 60

ctgatgatta gccgcacccc ggaagtgacc tgcgtggtgg tggatgtgag ccatgaagat 120

ccggaagtga aatttaactg gtatgtggat ggcgtggaag tgcataacgc gaaaaccaaa 180

ccgcgcgaag aacagtataa cagcacctat cgcgtggtga gcgtgctgac cgtgctgcat 240

caggattggc tgaacggcaa agaataaaa tgcaaagtga gcaacaaagc gctgccggcg 300

10 ccgattgaaa aaaccattag caaagcgaaa 330

<210> 50

<211> 110

<212> PRT

15 <213> Homo sapiens

<400> 50

ES 2 363 023 T3

Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys  
 1 5 10 15

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val  
 20 25 30

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr  
 35 40 45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu  
 50 55 60

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His  
 65 70 75 80

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys  
 85 90 95

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys  
 100 105 110

<210> 51

5 <211> 330

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 51

gcgccggaat ttctggggcg cccgagcgtg tttctgtttc cgccgaaacc gaaagatacc 60  
 ctgatgatta gccgcacccc ggaagtgacc tgcgtggtgg tggatgtgag ccaggaagat 120  
 ccggaagtgc agttaaactg gtatgtggat ggcgtggaag tgcataacgc gaaaac caaa 180  
 ccgcgcggaag aacagttaa cagcacctat cgcgtggtga gcgtgctgac cgtgctgcat 240  
 caggattggc tgaacggcaa agaataaaa tgcaaagtga gcaacaaagg cctgccgagc 300  
 10 agcattgaaa aaaccattag caaagcgaaa 330

<210> 52

<211> 110

<212> PRT

15 <213> Homo sapiens

<400> 52



ES 2 363 023 T3

Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys  
 1 5 10 15

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val  
 20 25 30

Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr  
 35 40 45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu  
 50 55 60

Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His  
 65 70 75 80

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys  
 85 90 95

Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys  
 100 105 110

<210> 53

<211> 330

5 <212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 53

gcgccggaag cggcgggcg cccgagcgtg tttctgtttc cgccgaaacc gaaagatacc 60

ctgatgatta gccgcacccc ggaagtgacc tgcgtggtgg tggatgtgag ccaggaagat 120

ccggaagtgc agtttaactg gtatgtggat ggcgtggaag tgcataacgc gaaaa ccaaa 180

ccgcgcgaag aacagt ttaa cagcacctat cgcgtggtga gcgtgctgac cgtgctgcat 240

caggattggc tgaacggcaa agaataaaa tgcaaagtga gcaacaaagg cctgc cgagc 300

agcattgaaa aaacca ttag caaagcgaaa 330

10

<210> 54

<211> 110

<212> PRT

<213> Homo sapiens

15 <400> 54

ES 2 363 023 T3

Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys  
 1 5 10 15

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val  
 20 25 30

Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr  
 35 40 45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu  
 50 55 60

Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His  
 65 70 75 80

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys  
 85 90 95

Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys  
 100 105 110

<210> 55

<211> 321

5 <212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 55

```

ggccagccgc gcgaaccgca ggtgtatacc ctgccgccga gccgcgatga actgacccaaa      60
aaccaggtga gcttgacctg cctggtgaaa ggctttttatc cgagcgatat tgcggtggaa      120
tgggaaagca acggccagcc ggaaaacaac tataaaacca ccccgccggt gctggatagc      180
gatggcagct tttttctgta tagcaaactg accgtggata aaagccgctg gcagcagggc      240
aacgtgttta gctgcagcgt gatgcatgaa gcgctgcata accattatac ccagaaaagc      300
ctgagcctga gcccgggcaa a                                          321
  
```

10

<210> 56

<211> 107

<212> PRT

<213> Homo sapiens

15 <400> 56

ES 2 363 023 T3

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

Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe  
20 25 30

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu  
35 40 45

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

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly  
65 70 75 80

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr  
85 90 95

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
100 105

<210> 57

<211> 321

5 <212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 57

```
ggccagccgc gcgaa.ccgca ggtgtatacc ctgccgccga gccaggaaga aatgaCcaaa 60
aaccaggtga gcctgacctg cctggtgaaa ggcttttatc cgagcgatat tgcggtggaa 120
tgggaaagca acggc.cagcc ggaaaacaac tataaaacca ccccgccggt gctggatagc 180
gatggcagct ttttt.ctgta tagccgcctg accgtggata aaagccgctg gcaggaaggc 240
aacgtgttta gctgcagcgt gatgcatgaa gcgctgcata accattatac ccagaaaagc 300
ctgagcctga gcctgggcaa a 321
```

10

<210> 58

<211> 107

<212> PRT

<213> Homo sapiens

15 <400> 58

ES 2 363 023 T3

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

<210> 59

5 <211> 777

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Mimetico cuerpo de alfa-MSH de unión a receptor de melanocortina sin señal secretora

10 <400> 59

ES 2 363 023 T3

tcctactcca tggagcactt ccgctggggc aagccggtgg gatccggtgg aggctccggt 60  
 accttagtca ccgtctcctc agagcccaaa tcttgtgaca aaactcacac gtgcccaccg 120  
 tgcccagcac ctgaaactcct ggggggaccg tcagtcttcc tcttcccccc aaaaccCaag 180  
 gacaccctca tgatctcccc gaccctgag gtcacatgcg tggtggtgga cgtgagccac 240  
 gaagaccctg aggtcaagtt caactggtac gtggacggcg tggaggtgca taatgcCaag 300  
 acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc acgtaccggg tggtcagcgt cctcacccgc 360  
 ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggag tacaagtgca aggtctcaa caaagccctc 420  
 ccagccccca tcgagaaaac catctccaaa gccaaagggc agccccgaga accacagggtg 480  
 tacaccctgc ccccatcccc ggatgagctg accaagaacc aggtcagcct gacctgcctg 540  
 gtcaaaggct tctatcccag cgacatcgcc gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag 600  
 aacaactaca agaccacgcc tcccgtgctg gactccgacg gtccttctt cctctacagc 660  
 aagctcaccg tggacaagag cagggtggcag caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg 720  
 catgaggctc tgcaCaacca ctacacgcag aagagcctct ccctgtctcc gggtaaa 777

<210> 60

<211> 259

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Mimeticuerpo de alfa-MSH de unión a receptor de melanocortina sin señal secretora

<400> 60

10

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

<210> 61

<211> 843

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Mimeticoerpo de alfa-MSH de unión a receptor de melanocortina con señal secretora y V1.

<400> 61

```

atggcttggg tgtggacctt gctattcctg atggcggccg cccaaagtat acaggcccag      60
atccagtcct actccatgga gcacttcctg tggggcaagc cggtgggatc cggtgagggc      120
tccggtacct tagtcaccgt ctcctcagag cccaaatctt gtgacaaaac tcacacgtgc      180
ccaccgtgcc cagcacctga actcctgggg ggaccgtcag tcttcctctt cccccaaaa      240
ccaaggaca ccctcatgat ctcccggacc cctgaggtca catgcgtggg ggtggacgtg      300
agccacgaag accctgaggt caagttcaac tggtagctgg acggcgtgga ggtgcataat      360
gccaaagaca agcgcgggga ggagcagtac aacagcacgt accgggtggg cagcgtcctc      420
accgtcctgc accaggactg gctgaatggc aaggagtaca agtgcaaggt ctccaacaaa      480
gccctcccag cccccatcga gaaaaccatc tccaaagcca aagggcagcc ccgagaacca      540
caggtgtaca ccctgcccc atcccgggat gagctgacca agaaccaggg cagcctgacc      600
tgcttggtca aaggcttcta tcccagcgac atcgccgtgg agtgggagag caatgggcag      660
ccggagaaca actacaagac cacgcctccc gtgctggact ccgacggc tc cttcttctc      720
tacagcaagc tcaccgtgga caagagcagg tggcagcagg ggaacgtc tt ctcatgctcc      780
gtgatgcatg aggctctgca caaccactac acgcagaaga gcctctcc ct gtctccgggt      840
aaa                                                                                   843

```

10

<210> 62

<211> 281

<212> PRT

15 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Mimeticoerpo de alfa-MSH de unión a receptor de melanocortina con señal secretora y V1.

<400> 62

ES 2 363 023 T3

Met Ala Trp Val Trp Thr Leu Leu Phe Leu Met Ala Ala Ala Gln Ser  
1 5 10 15

Ile Gln Ala Gln Ile Gln Ser Tyr Ser Met Glu His Phe Arg Trp Gly  
20 25 30

Lys Pro Val Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Thr Leu Val Thr Val Ser  
35 40 45

Ser Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro  
50 55 60

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

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val  
85 90 95

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr  
100 105 110

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu  
115 120 125

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His  
130 135 140

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys  
145 150 155 160

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln  
165 170 175

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu  
180 185 190

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro  
195 200 205

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn  
210 215 220

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu  
225 230 235 240



ES 2 363 023 T3

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val  
 245 250 255

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln  
 260 265 270

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 275 280

<210> 63

<211> 11978

5 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Vector de expresión

<400> 63

10

gttgacattg attattgact agttattaat agtaatcaat tacgggggtca ttagttcata 60  
 gcccatatat ggagttccgc gttacataac ttacggtaaa tggcccgcct ggctgaccgc 120  
 ccaacgaccc ccgcccattg acgtcaataa tgacgtatgt tcccatagta acgccaatag 180  
 ggactttcca ttgacgtcaa tgggtggagt atttacggta aactgcccac ttggcagtac 240  
 atcaagtgta tcatatgcca agtccgcccc ctattgacgt caatgacggt aaatggcccg 300  
 cctggcatta tgcccagtac atgaccttac gggactttcc tacttggcag taCatctacg 360  
 tattagtcac cgctattacc atggtgatgc ggttttggca gtacaccaat gggcggtgat 420  
 agcggtttga ctacgggga tttccaagtc tccaccccat tgacgtcaat gggagtttgt 480  
 tttggcacca aatcaacgg gactttcaa aatgtcgtaa taaccccgcc ccgttgacgc 540  
 aaatggggcg taggcgtgta cgggtggagg tctatataag cagagctcgt ttagtgaacc 600  
 gtcagatcgc ctggagacgc catccacgct gttttgacct ccatagaaga caCcgggacc 660  
 gatccagcct ccgcgcccg gaacggtgca ttggaacgcg gattccccgt gcCaagagtg 720  
 acgtaagtac cgcctataga gtctataggc ccacctcctt ggcttcttat gcatgctata 780  
 ctgtttttgg cttgggggtct atacaccccc gcttcctcat gttatagggtg atgggtatagc 840  
 ttagcctata ggtgtggggtt attgaccatt attgaccact cccctattgg tgacgatact 900  
 ttccattact aatccataac atggctcttt gccacaactc tctttattgg ctatatgcca 960  
 atacactgtc cttcagagac tgacacggac tctgtatfff tacaggatgg ggtctcattt 1020  
 attatttaca aattcacata tacaacacca ccgtccccag tgcccgcagc ttttattaaa 1080  
 cataacgtgg gatctccacg cgaatctcgg gtacgtgttc cggacatggg ctCttctccg 1140  
 gtageggcgg agcttctaca tccgagccct gctcccatgc ctccagcgac tcatgggtcgc 1200

ES 2 363 023 T3

tcggcagctc cttgctccta acagtggagg ccagacttag gcacagcacg atgcccacca 1260  
ccaccagtgt gccgcacaag gccgtggcgg tagggatatgt gtctgaaaat gagctcgggg 1320  
agcgggcttg caccgctgac gcatttggaa gacttaaggc agcggcagaa gaagatgcag 1380  
gcagctgagt tgttgtgttc tgataagagt cagaggtaac tcccgttgcg gtgctgttaa 1440  
cgggtggagg cagtgtagtc tgagcagtac tcggtgctgc cgcgcgcgcc accagacata 1500  
atagctgaca gactaacaga ctgttccttt ccatgggtct tttctgcagt caccgtcctt 1560  
agatctgtct agaagctggg taccagctgc tagcgcacc atggcttggg tgtggacctt 1620  
gctattcctg atggcggccg cccaaagtat acaggcccag atccagtcct actccatgga 1680  
gcacttccgc tggggcaagc cgggtgggatc cgggtggaggc tccggtacct tagtcaccgt 1740  
ctcctcagag cccaatctt gtgacaaaac tcacacgtgc ccaccgtgcc cagcacctga 1800  
actcctgggg ggaccgtcag tcttcctctt cccccaaaa cccaaggaca ccctcatgat 1860  
ctcccgacc cctgaggtca catgcgtggt ggtggacgtg agccacgaag accctgaggt 1920  
caagttcaac tggtaacgtg acggcgtgga ggtgcataat gccaaagaca agccgcggga 1980  
ggagcagtac aacagcacgt accgggtggt cagcgtcctc accgtcctgc accaggactg 2040  
gctgaatggc aaggagtaca agtgcaaggc ctccaacaaa gccctcccag cccccatcga 2100  
gaaaaccatc tccaagcca aagggcagcc ccgagaacca caggtgtaca ccctgcccc 2160  
atcccggtat gagctgacca agaaccaggc cagcctgacc tgcttggta aaggcttcta 2220  
tcccagcgc acgcgcgtgg agtgggagag caatgggcag ccggagaaca actacaagac 2280  
cacgcctccc gtgctggact ccgacggctc cttcttctc tacagcaagc tcaccgtgga 2340  
caagagcagg tggcagcagg ggaacgtctt ctcatgctcc gtgatgcatg aggtctgca 2400  
caaccactac acgcagaaga gcctctccct gtctccgggt aaatgagggc ccgtttaaac 2460  
agatccagac atgataagat acattgatga gtttgacaaa accacaacta gaatgcagtg 2520  
aaaaaatgc tttatctgtg aaatctgtga tgctattgct ttatctgtaa ccattataag 2580  
ctgcaataaa caagttaaca acaacaattg cattcatttt atgtttcagg tcaggggga 2640  
gggtgtggag gttctttaa gcaagtaaaa cctctacaaa tgtggatgg ctgattatga 2700  
tccggctgcc tcgcgcgttt cgggtgatgac ggtgaaaacc totgacacat gcagctccc 2760  
gagacggtca cagcttgtct gtaagcggat gccgggagca gacaagccc t caggcgtca 2820  
gcgggtgttg gcgggtgtcg gggcgcagcc atgaggtoga ctctagagga tcgatcccc 2880  
gccccggacg aactaaacct gactacgaca tctctgcccc ttcttcgagg ggcagtgc 2940  
gtaatccctt cagtgggtg gtacaacttg ccaactgggc cctgttcac atgtgacacg 3000  
gggggggacc aaacacaaag gggttctctg actgtagttg acatccttat aatggatgt 3060  
gcacatttgc caacactgag tggctttcat cctggagcag actttgcagt ctgtggactg 3120

caacacaaca	ttgcctttat	gtgtaactct	tggctgaagc	tcttacacca	atgctggggg	3180
acatgtacct	cccagggggc	caggaagact	acgggaggct	acaccaacgt	caatcagagg	3240
ggcctgtgta	gtaaccgata	agcggaccct	caagagggca	ttagcaatag	tgttttataag	3300
gcccccttgt	taaccctaaa	cgggtagcat	atgcttcccc	ggtagtagta	tatctatcc	3360
agactaacc	taattcaata	gcatatgtta	cccaacggga	agcatatgct	atcgaattag	3420
ggtagtaaaa	agggctcctaa	ggaacagcga	tatctcccac	cccatgagct	gtcacggttt	3480
tatttacatg	gggtcaggat	tccacgaggg	tagtgaacca	ttttagtcac	aaaggcagtg	3540
gctgaagatc	aaggagcggg	cagtgaactc	tcctgaatct	tcgctgctt	cttcattctc	3600
cttcgtttag	ctaa tagaat	aactgctgag	ttgtgaacag	taagggtgat	gtgaggtgct	3660
cgaaaacaag	gtttcaggtg	acgccccag	aataaaaattt	ggacgggggg	ttcagtggtg	3720
gcattgtgct	atgacaccaa	tataaccctc	acaaaccctt	tgggcaataa	atactagtgt	3780
aggaatgaaa	cattctgaat	atctttaaca	atagaaatcc	atgggggtggg	gacaagccgt	3840
aaagactgga	tgctcatctc	acacgaattt	atggctatgg	gcaacacata	atcctagtgc	3900
aatatgatac	tgggggttatt	aagatgtgtc	ccaggcaggg	accaagacag	gtgaaccatg	3960
ttgttacct	ctattgtaa	caaggggaaa	gagagtggac	gccgacagca	gcggactcca	4020
ctggttgtct	ctaacacccc	cgaaaattaa	acggggctcc	acgccaatgg	ggccccataaa	4080
caaagacaag	tggccactct	tttttttgaa	attgtggagt	gggggcacgc	gtcagcccc	4140
acacgccgcc	ctgcggtttt	ggactgtaaa	ataaggggtg	aataacttgg	ctgattgtaa	4200
ccccgctaac	cactgcggtc	aaaccacttg	cccacaaaac	cactaatggc	acccccgggga	4260
atacctgcat	aagt aggtgg	gcgggccaag	ataggggagc	gattgctgag	atctggagga	4320
caaattacac	acacttgccg	ctgagcgcca	agcacagggt	tgttggtcct	catattcaag	4380
aggtcgctga	gagcacggtg	ggctaattgt	gccatgggta	gcatatacta	cccaaatatc	4440
tggatagcat	atgctatcct	aatctatata	tgggtagcat	aggctatcct	aatctatata	4500
tgggtagcat	atgctatcct	aatctatata	tgggtagtat	atgctatcct	aatttatata	4560
tgggtagcat	aggctatcct	aatctatata	tgggtagcat	atgctatcct	aatctatata	4620
tgggtagtat	atgctatcct	aatctgtata	cgggtagcat	atgctatcct	aatagagatt	4680
agggtagtat	atgctatcct	aatttatata	tgggtagcat	atactacca	aatatctgga	4740
tagcatatgc	tatcctaata	tatatctggg	tagcatatgc	tatcctaata	tatatctggg	4800
tagcataggc	tatcctaata	tatatctggg	tagcatatgc	tatcctaata	tatatctggg	4860
tagtatatgc	tatcctaatt	tatatctggg	tagcataggc	tatcctaata	tatatctggg	4920
tagcatatgc	tatcctaata	tatatctggg	tagtatatgc	tatcctaata	tgtatccggg	4980

ES 2 363 023 T3

tagcatatgc	tatcctcatg	catatacagt	cagcatatga	taccagtag	tagagtggga	5040
gtgctatcct	ttgcatatgc	cgccacctcc	caagggggcg	tgaattttcg	ctgcttgtcc	5100
ttttcctgct	ggttgctccc	attccttaggt	gaatttaagg	aggccaggct	aaagccgtcg	5160
catgtctgat	tgctcaccag	gtaaatgtcg	ctaattgttt	ccaacgcgag	aaggtggtga	5220
gcgcggagct	gagtgacgtg	acaacatggg	tatgcccaat	tgcccatgt	tgggaggacg	5280
aaaatgggtga	caagacagat	ggccagaaat	acaccaacag	cacgcatgat	gtctactggg	5340
gatttattct	ttagtgcggg	ggaatacacg	gcttttaata	cgattgaggg	cgtctcctaa	5400
caagttacat	cactcctgcc	cttcctcacc	ctcatctcca	tcacctcctt	catctccgtc	5460
atctccgtca	tcaccctccg	cggcagcccc	tccaccata	ggtggaaacc	agggaggcaa	5520
atctactcca	tcgtcaaagc	tgcacacagt	cacctgata	ttgcaggtag	gagcgggctt	5580
tgtcataaca	aggtccttaa	tcgcatcctt	caaaacctca	gcaaatatat	gagtttghta	5640
aaagaccatg	aaataacaga	caatggactc	ccttagcggg	ccaggttgtg	ggccgggtcc	5700
aggggccatt	ccaaagggga	gacgactcaa	tgggtgaaga	cgacattgtg	gaatagcaag	5760
ggcagttcct	cgccttaggt	tgtaaagggg	ggtcttacta	cctccatata	cgaacacacc	5820
ggcgacccaa	gttccttcgt	cggtagtctt	ttctacgtga	ctcctagcca	ggagagctct	5880
taaaccttct	gcaatgttct	caaatttcgg	gttggaacct	ccttgaccac	gatgcttttc	5940
caaaccacc	tccttttttg	cgccctgcct	ccatcacctt	gacccggggg	tccagtgcct	6000
gggccttctc	ctgggtcacc	tgccggggcc	tgctctatcg	ctccggggg	cacgtcaggc	6060
tcaccatctg	ggccaccttc	ttggtggtat	tcaaaataat	cggcttcccc	tacaggggtg	6120
aaaaatggcc	ttctacctgg	agggggcctg	cgcggtggag	accggatga	tgatgactga	6180
ctactgggac	tcctgggcct	cttttctcca	cgtccaagac	ctctccccct	ggctctttca	6240
cgacttcccc	ccctggctct	ttcacgtcct	ctaccccggc	ggcctccact	acctcctcga	6300
ccccggcctc	cactacctcc	tcgacccggg	cctccactgc	ctcctcgacc	ccggcctcca	6360
cctcctgctc	ctgcccctcc	tgctcctgcc	cctcctcctg	ctcctgcccc	tctgcccctt	6420
cctgctcctg	cccctcctgc	ccctcctgct	cctgcccctc	ctgcccctcc	tgctcctgcc	6480
cctcctgccc	ctcctcctgc	tctgcccctt	cctgcccctc	ctcctgctcc	tgcccctcct	6540
gcccctcctg	ctcctgcccc	tctgcccctt	cctgctcctg	cccctcctgc	ccctcctgct	6600
cctgcccctc	ctgctcctgc	ccctcctgct	cctgcccctc	ctgctcctgc	ccctcctgcc	6660
cctcctgccc	ctcctcctgc	tctgcccctt	cctgctcctg	cccctcctgc	ccctcctgcc	6720
cctcctgctc	ctgcccctcc	tctgctcctt	gcccctcctg	cccctcctgc	ccctcctcct	6780
gctcctgccc	ctcctgcccc	tctcctgctt	cctgcccctc	ctcctgctcc	tgcccctcct	6840
gcccctcctg	cccctcctcc	tgctcctgcc	cctcctgccc	ctcctcctgc	tctgcccctt	6900

ES 2 363 023 T3

cctcctgctc	ctgccccctc	tgccccctct	gccccctctc	ctgctcctgc	ccctcctcct	6960
gctcctgccc	ctcctgcccc	tcttgcccc	cctgccccct	ctcctgctcc	tgccccctct	7020
cctgctcctg	ccccctctgc	tcttgcccc	cccgctcctg	ctcctgctcc	tgttccaccg	7080
tgggtccctt	tgcagccaat	gcaacttgga	cgtttttggg	gtctccggac	accatctcta	7140
tgtcttggcc	ctgatcctga	gccgcccggg	gctcctggtc	ttccgcctcc	tcgtcctcgt	7200
cctcttcccc	gtcctcgctc	atggttatca	ccccctcttc	tttgaggctc	actgccgccg	7260
gagccttctg	gtccagatgt	gtctcccttc	tctcctaggc	catttccagg	tctgtacct	7320
ggccccctgt	cagacatgat	tcacactaaa	agagatcaat	agacatcttt	attagacgac	7380
gctcagtga	tacagggagt	gcagactcct	gccccctcca	acagcccccc	caccctcatc	7440
cccttcatgg	tcgctgtcag	acagatccag	gtctgaaaat	tccccatcct	ccgaaccatc	7500
ctcgtcctca	tcaccaatta	ctcgcagccc	ggaaaactcc	cgctgaacat	cctcaagatt	7560
tgcgtcctga	gcctcaagcc	aggcctcaaa	ttcctcgctc	ccctttttgc	tggacggtag	7620
ggatggggat	tctcgggacc	cctcctcttc	ctcttcaagg	tcaccagaca	gagatgctac	7680
tggggcaacg	gaagaaaagc	tgggtgcggc	ctgtgaggat	cagcttatcg	atgataagct	7740
gtcaaacatg	agaattcttg	aagacgaaag	ggcctcgtga	tacgcctatt	tttatagggt	7800
aatgtcatga	taataatgg	ttcttagacg	tcaggtggca	cttttcgggg	aaatgtgcgc	7860
ggaacccta	tttgtttatt	tttctaaata	cattcaaata	tgtatccgct	catgagacaa	7920
taaccctgat	aaatgcttca	ataatattga	aaaaggaaga	gtatgagtat	tcaacatttc	7980
cgtgtcgccc	ttattccctt	ttttgcggca	ttttgccttc	ctgtttttgc	tcaccagaa	8040
acgctggtga	aagtaaaaga	tgctgaagat	cagttgggtg	cacgagtggg	ttacatcgaa	8100
ctggatctca	acagcggtaa	gatccttgag	agttttcgcc	ccgaagaacg	ttttccaatg	8160
atgagcactt	ttaaagttct	gctatgtggc	gcggtattat	cccgtgttga	cgccgggcaa	8220
gagcaactcg	gtcgcgcgat	acactattct	cagaatgact	tggttgagta	ctcaccagtc	8280
acagaaaagc	atcttacgga	tggcatgaca	gtaagagaat	tatgcagtgc	tgccataacc	8340
atgagtgata	acactgcggc	caacttactt	ctgacaacga	tcggaggacc	gaaggagcta	8400
accgcttttt	tgcacaacat	gggggatcat	gtaactcgcc	ttgatcgttg	ggaaccggag	8460
ctgaatgaag	ccataccaaa	cgacgagcgt	gacaccaacga	tgcoctgcagc	aatggcaaca	8520
acgttgcgca	aactattaac	tggcgaacta	cttactctag	cttcccggca	acaattaata	8580
gactggatgg	aggcggataa	agttgcagga	ccacttctgc	gctcggccct	tccggctggc	8640
tggtttattg	ctgataaatc	tggagccgg	gagcgtgggt	ctcgcggtat	cattgcagca	8700
ctggggccag	atggtaagcc	ctccccgtatc	gtagttatct	acacgacggg	gagtcaggca	8760

ES 2 363 023 T3

actatggatg aacgaaatag acagatcgct gagataggtg cctcactgat taagcattgg 8820  
 taactgtcag accaagttta ctcatatata ctttagattg atttaaaact tcatttttaa 8880  
 tttaaaagga tctaggtgaa gatccttttt gataatctca tgaccaaaat cccttaacgt 8940  
 gagttttcgt tccactgagc gtcagacccc gtagaaaaga tcaaaggatc ttcttgagat 9000  
 cctttttttc tgcgcgtaat ctgctgcttg caaacaaaaa aaccaccgct accagcgggtg 9060  
 gtttgtttgc cggatcaaga gctaccaact ctttttccga aggtaactgg cttcagcaga 9120  
 gcgcagatac caaatactgt ccttctagtg tagccgtagt taggccacca cttcaagaac 9180  
 tctgtagcac cgcctacata cctcgctctg ctaatcctgt taccagtggc tgctgccagt 9240  
 ggcgataagt cgtgtcttac cgggttggac tcaagacgat agttaccgga taaggcgcag 9300  
 cggtcgggct gaacggggggg ttcgtgcaca cagcccagct tggagcgaac gacctacacc 9360  
 gaactgagat acctacagcg tgagctatga gaaagcgcca cgcttcccga agggagaaaag 9420  
 gcggacaggt atccggtaag cggcagggtc ggaacaggag agcgcacgag ggagcttcca 9480  
 gggggaaaacg cctggtatct ttatagtctt gtcgggtttc gccacctctg acttgagcgt 9540  
 cgatttttgt gatgctcgtc aggggggcg agcctatgga aaaacgccag caacgcggcc 9600  
 tttttacggt tcctggcctt ttgctggcct tgaagctgtc cctgatggtc gtcacttacc 9660  
 tgcctggaca gcatggcctg caacgcgggc atcccgatgc cgccggaagc gagaagaatc 9720  
 ataatgggga aggccatcca gcctcgcgtc gcgaacgcca gcaagacgta gccagcgcg 9780  
 tcggccccga gatgcgcgcg gtgcggctgc tggagatggc ggacgcgatg gatatgttct 9840  
 gccaaagggtt ggtttgcgca ttcacagttc tccgcaagaa ttgattggct ccaattcttg 9900  
 gagtggtgaa tccgttagcg aggtgccgc cctgctcctc cccgtggccc gttgctcgcg 9960  
 tttgctggcg gtgtccccg aagaaatata tttgcatgtc tttagtctta tgatgacaca 10020  
 aaccccgcc agcgtcttgt cattggcgaa ttcgaacacg cagatgcagt cggggcggcg 10080  
 cggtcgagg tccacttcgc atattaaggt gacgcgtgtg gcctcgaa ca ccgagcgacc 10140  
 ctgcagcgac ccgcttaaca gcgtcaacag cgtgccgcag atcccggggg gcaatgagat 10200  
 atgaaaaagc ctgaaactcac cgcgacgtct gtcgagaagt ttctgatcga aaagtctgac 10260  
 agcgtctccg acctgatgca gctctcggag ggcgaagaat ctctgtcttt cagcttcgat 10320  
 gtaggagggc gtggatatgt cctgcgggta aatagctgcg ccgatggctt ctacaaagat 10380  
 cgttatgttt atcggcactt tgcacggcc gcgctcccga ttccggaagt gcttgacatt 10440  
 ggggaattca gcgagagcct gacctattgc atctcccgc gtgcacaggg tgtcacgttg 10500  
 caagacctgc ctgaaaccga actgcccgtc gttctgcagc cggtcgcgga ggccatggat 10560  
 gcgatcgtg cggccgatct tagccagacg agcgggttcg gcccatcgg accgcaagga 10620  
 atcggtcaat aactacatg gcgtgatttc atatgcgcga ttgctgat cc ccatgtgtat 10680

ES 2 363 023 T3

cactggcaaa ctgtgatgga cgacaccgtc agtgcgtccg tcgcgcaggc tctcgatgag 10740  
 ctgatgcttt gggccgagga ctgccccgaa gtccggcacc tcgtgca.cgc ggatttcggc 10800  
 tccaacaatg tcctgacgga caatggccgc ataacagcgg tcattgactg gagcgaggcg 10860  
 atgttcgggg atttcccaata cgaggtcgcc aacatcttct tctggaggcc gtggttggct 10920  
 tgtatggagc agcagacgcg ctacttcgag cggaggcatc cggagct.tgc aggatcggcg 10980  
 cggctccggg cgtatatgct ccgcattggt cttgaccaac tctatcagag cttggttgac 11040  
 ggcaatttcg atgatgcagc ttgggcgcag ggtcgatgcg acgcaat.cgt ccgatccgga 11100  
 gccgggactg tcgggcgtac acaaatcgcc cgcagaagcg cggccgt.ctg gaccgatggc 11160  
 tgtgtagaag tactcgccga tagtggaaac cgacgcccc a gactcgtcc ggatcgggag 11220  
 atgggggagg ctaactgaaa cacggaagga gacaataccg gaaggaa.ccc gcgctatgac 11280  
 ggcaataaaa agacagaata aaacgcacgg gtgttggttc gtttgtt.cac aaacgcgggg 11340  
 ttcggtccca gggctggcac tctgtcgata ccccaccgag accccat.tgg ggccaatac 11400  
 cccggtt.tc ttccttttcc ccaccccacc cccaagttc ggggaaaggc ccagggctcg 11460  
 cagccaacgt cggggcgga ggccctgcca tagccactgg ccccgtrggg tagggacggg 11520  
 gtccccatg gggaatggtt tatggttcgt gggggttatt attttgggcg ttgcgtgggg 11580  
 tcaggtccac gactggactg agcagacaga cccatggttt ttggatggcc tgggcatgga 11640  
 ccgcatgtac tggcgcgaca cgaacaccgg gcgtctgtgg ctgccaaaca cccccgacc 11700  
 ccaaaaa.cca ccgcgcggat ttctggcgtg ccaagctagt cgaccaattc tcatgtttga 11760  
 cagcttatca tcgcagatcc gggcaacggt gttgccattg ctgcaggcgc agaactggta 11820  
 ggtatggaag atctatacat tgaatcaata ttggcaatta gccatat.tag tcattgggta 11880  
 tatagcataa atcaatattg gctattggcc attgcatacg ttgtatctat atcataatat 11940  
 gtacatttat attggctcat gtccaatatg accgccat 11978

<210> 64

<211> 696

5 <212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 64

# ES 2 363 023 T3

gaaccgaaaa gctgcgataa aaccataacc tgcccgcgct gcccgccgcc ggaactgctg	60
ggcggcccga gcgtgtttct gtttccgccg aaaccgaaag ataccctgat gattagccgc	120
accccggaag tgacctgcgt ggtggtggat gtgagccatg aagatccgga agtgaattt	180
aactggtatg tggatggcgt ggaagtgcac aacgcgaaaa ccaaaccgcg cgaagaacag	240
tataacagca cctatcgctt ggtgagcgtg ctgaccgtgc tgcatacagg ttggctgaac	300
ggcaaagaat ataaatgcaa agtgagcaac aaagcgctgc cggcgccgat tgaaaaaacc	360
attagcaag cgaaaggcca gccgcgcgaa ccgcaggtgt ataccctgcc gccgagccgc	420
gatgaactga ccaaaaacca ggtgagcctg acctgcctgg tgaaaggctt ttatccgagc	480
gatattgcgg tggaatggga aagcaacggc cagccggaaa acaactataa aaccaccccg	540
ccggtgctgg atagcgatgg cagctttttt ctgtatagca aactgacgct ggataaaagc	600
cgctggcagc agggcaacgt gtttagctgc agcgtgatgc atgaagcgct gcataacccat	660
tataccaga aaagcctgag cctgagcccg ggcaaa	696

<210> 65

<211> 232

5 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 65



ES 2 363 023 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> 66

<211> 45

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 66

atgattagcc gcaccccgac cgtgctgcat cagcataacc attat 45

5 <210> 67

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 67

10

Met Ile Ser Arg Thr Pro Thr Val Leu His Gln His Asn His Tyr  
 1 5 10 15

<210> 68

<211> 57

15 <212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 68

atggcttggg tgtggacctt gctattcctg atggcggccg cccaaagtat acaggcc 57

<210> 69

20 <211> 19

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 69

Met Ala Trp Val Trp Thr Leu Leu Phe Leu Met Ala Ala Ala Gln Ser  
 1 5 10 15

25 Ile Gln Ala

<210> 70

<211> 951

<212> ADN

30 <213> Homo sapiens

<400> 70

ES 2 363 023 T3

atggctgtgc agggatccca gagaagactt ctgggctccc tcaactccac ccccacagcc 60  
atccccagc tggggctggc tgccaaccag acaggagccc ggtgcctgga ggtgtccatc 120  
tctgacgggc tcttcctcag cctggggctg gtgagcttgg tggagaacgc gctgggtggtg 180  
gccaccatcg ccaagaaccg gaacctgcac tcacccatgt actgcttcat ctgctgctg 240  
gccttgtcgg acctgctggg gagegggagc aacgtgctgg agacggccgt catcctcctg 300  
ctggaggccg gtgactggg ggcccgggct gcggtgctgc agcagctgga caatgtcatt 360  
gacgtgatca cctgcagctc catgctgtcc agcctctgct tcctggggcgc catcgccgtg 420  
gaccgctaca tctccatctt ctacgcaactg cgtaccaca gcaacgtgac cctgccgcgg 480  
gcgcgccgag ccgttgccgc catctgggtg gccagtgtcg tcttcagcac gctcttcatc 540  
gcctactacg accacgtggc cgtcctgctg tgctcgtgg tctcttctct ggctatgctg 600  
gtgctcatgg ccgtgctgta cgtccacatg ctggcccggg cctgccagca cccccagggc 660  
atcgcccggc tccacaagag gcagcgcgcc gtccaccagg gctctggcct taaaggcgct 720  
gtcaccctca ccacctcctg gggcattttc ttctctgct ggggcccctt ctctcctcat 780  
ctcacactca tcgtcctctg ccccgagcac cccacgtgcg gctgcatctt caagaacttc 840  
aacctctttc tcgccctcat catctgcaat gccatcctg acccctcat ctacgccttc 900  
cacagccagg agctccgag gacgctcaag gaggtgctga cgtgctcctg g 951

<210> 71

<211> 317

5 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 71

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

Thr Pro Thr Ala Ile Pro Gln Leu Gly Leu Ala Ala Asn Gln Thr Gly  
20 25 30

Ala Arg Cys Leu Glu Val Ser Ile Ser Asp Gly Leu Phe Leu Ser Leu  
35 40 45

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

Lys Asn Arg Asn Leu His Ser Pro Met Tyr Cys Phe Ile Cys Cys Leu  
65 70 75 80

ES 2 363 023 T3

Ala Leu Ser Asp Leu Leu Val Ser Gly Ser Asn Val Leu Glu Thr Ala  
85 90 95

Val Ile Leu Leu Leu Glu Ala Gly Ala Leu Val Ala Arg Ala Ala Val  
100 105 110

Leu Gln Gln Leu Asp Asn Val Ile Asp Val Ile Thr Cys Ser Ser Met  
115 120 125

Leu Ser Ser Leu Cys Phe Leu Gly Ala Ile Ala Val Asp Arg Tyr Ile  
130 135 140

Ser Ile Phe Tyr Ala Leu Arg Tyr His Ser Thr Val Thr Leu Pro Arg  
145 150 155 160

Ala Arg Arg Ala Val Ala Ala Ile Trp Val Ala Ser Val Val Phe Ser  
165 170 175

Thr Leu Phe Ile Ala Tyr Tyr Asp His Val Ala Val Leu Leu Cys Leu  
180 185 190

Val Val Phe Phe Leu Ala Met Leu Val Leu Met Ala Val Leu Tyr Val  
195 200 205

His Met Leu Ala Arg Ala Cys Gln His Ala Gln Gly Ile Ala Arg Leu  
210 215 220

His Lys Arg Gln Arg Pro Val His Gln Gly Phe Gly Leu Lys Gly Ala  
225 230 235 240

Val Thr Leu Thr Ile Leu Leu Gly Ile Phe Phe Leu Cys Trp Gly Pro  
245 250 255

Phe Phe Leu His Leu Thr Leu Ile Val Leu Cys Pro Glu His Pro Thr  
260 265 270

Cys Gly Cys Ile Phe Lys Asn Phe Asn Leu Phe Leu Ala Leu Ile Ile  
275 280 285

Cys Asn Ala Ile Ile Asp Pro Leu Ile Tyr Ala Phe His Ser Gln Glu  
290 295 300

Leu Arg Arg Thr Leu Lys Glu Val Leu Thr Cys Ser Trp  
305 310 315

<210> 72

<211> 891

ES 2 363 023 T3

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 72

atgaagcaca ttatcaactc gtatgaaaac atcaacaaca cagcaagaaa taattccgac	60
tgtcctcgtg tggttttgcc ggaggagata tttttcaciaa tttccattgt tggagttttg	120
gagaatctga tcgtcctgct ggctgtgttc aagaataaga atctccaggc acccatgtac	180
tttttcatct gtagcttggc catatctgat atgctgggca gcctatataa gatcttggaa	240
aatatcctga tcatattgag aaacatgggc tatctcaagc cacgtggcag ttttgaaacc	300
acagccgatg acatcatcga ctccctgttc gtccctctccc tgcttggtc catcttcagc	360
ctgtctgtga ttgctgcgga ccgctacatc accatcttcc acgcaactgcg gtaccacagc	420
atcgtgacca tgcgcccgcac tgtggtggtg cttacggtea tctggacggt ctgcacgggg	480
actggcatca ccatgggtgat cttctcccat catgtgcca cagtgatcac cttcacgtcg	540
ctgttcccgc tgatgctggt cttcatcctg tgcctctatg tgcacatggt cctgctggct	600
cgatcccaca ccaggaagat ctccaccctc cccagagcca acatgaaagg ggccatcaca	660
ctgaccatcc tgetcgggggt cttcatcttc tgetggggccc cctttgtgct tcatgtcctc	720
ttgatgacat tctgcccag taaccctac tgcgcctgct acatgtctct cttccagggtg	780
aacggcatgt tgatcatgtg caatgccgtc attgaccctc tcatatatgc cttccggagc	840
5 ccagagctca gggacgcatt caaaaagatg atcttctgca gcagggtactg g	891

<210> 73

<211> 297

<212> PRT

10 <213> Homo sapiens

<400> 73

ES 2 363 023 T3

Met Lys His Ile Ile Asn Ser Tyr Glu Asn Ile Asn Asn Thr Ala Arg  
 1 5 10 15

Asn Asn Ser Asp Cys Pro Arg Val Val Leu Pro Glu Glu Ile Phe Phe  
 20 25 30

Thr Ile Ser Ile Val Gly Val Leu Glu Asn Leu Ile Val Leu Leu Ala  
 35 40 45

Val Phe Lys Asn Lys Asn Leu Gln Ala Pro Met Tyr Phe Phe Ile Cys  
 50 55 60

Ser Leu Ala Ile Ser Asp Met Leu Gly Ser Leu Tyr Lys Ile Leu Glu  
 65 70 75 80

ES 2 363 023 T3

Asn Ile Leu Ile Ile Leu Arg Asn Met Gly Tyr Leu Lys Pro Arg Gly  
85 90 95

Ser Phe Glu Thr Thr Ala Asp Asp Ile Ile Asp Ser Leu Phe Val Leu  
100 105 110

Ser Leu Leu Gly Ser Ile Phe Ser Leu Ser Val Ile Ala Ala Asp Arg  
115 120 125

Tyr Ile Thr Ile Phe His Ala Leu Arg Tyr His Ser Ile Val Thr Met  
130 135 140

Arg Arg Thr Val Val Val Leu Thr Val Ile Trp Thr Phe Cys Thr Gly  
145 150 155 160

Thr Gly Ile Thr Met Val Ile Phe Ser His His Val Pro Thr Val Ile  
165 170 175

Thr Phe Thr Ser Leu Phe Pro Leu Met Leu Val Phe Ile Leu Cys Leu  
180 185 190

Tyr Val His Met Phe Leu Leu Ala Arg Ser His Thr Arg Lys Ile Ser  
195 200 205

Thr Leu Pro Arg Ala Asn Met Lys Gly Ala Ile Thr Leu Thr Ile Leu  
210 215 220

Leu Gly Val Phe Ile Phe Cys Trp Ala Pro Phe Val Leu His Val Leu  
225 230 235 240

Leu Met Thr Phe Cys Pro Ser Asn Pro Tyr Cys Ala Cys Tyr Met Ser  
245 250 255

Leu Phe Gln Val Asn Gly Met Leu Ile Met Cys Asn Ala Val Ile Asp  
260 265 270

Pro Phe Ile Tyr Ala Phe Arg Ser Pro Glu Leu Arg Asp Ala Phe Lys  
275 280 285

Lys Met Ile Phe Cys Ser Arg Tyr Trp  
290 295

<210> 74

<211> 1080

5 <212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 74

```

atgagcatcc aaaagacgta tctggaggga gattttgtct ttcctgtgag cagcagcagc      60

ttcctacgga cctgctgga gccccagctc ggatcagccc ttctgacagc aatgaatgct      1 20
tcgtgctgcc tgccctctgt tcagccaaca ctgcctaata gctcggagca cctccaagcc      1 80
cctttcttca gcaaccagag cagcagcggc ttctgtgagc aggtcttcat caagcccagag      2 40
gttttcctgt ctctgggcat cgtcagctctg ctggaaaaca tcttggttat cctggccgtg      3 00
gtcaggaacg gcaacctgca ctccccgatg tacttctttc tctgcagcct ggcggtggcc      3 60
gacatgctgg taagtgtgtc caatgccctg gagaccatca tgatcgccat cgtccacagc      4 20
gactacctga ccttcgagga ccagtttata cagcacatgg acaacatctt cgactccatg      4 80
atctgcatct ccctgggtggc ctccatctgc aacctcctgg ccatcgccgt cgacaggtac      5 40
gtcaccatct tttacgcgct ccgctaccac agcatcatga ccgtgaggaa ggcctcacc      6 00
ttgatcgtgg ccatctgggt ctgctgcggc gtctgtggcg tgggtgttcat cgtctactcg      6 60
gagagcaaaa tggtcattgt gtgcctcatc accatgttct tcgccatgat gctcctcatg      7 20
ggcaccctct acgtgcacat gttcctcttt gcgcggctgc acgtcaagcg catagcagca      7 80
ctgccacctg ccgacggggg ggccccacag caaacctcat gcatgaaggg ggcagtcacc      8 40
atcaccattc tcttgggcgt gttcatcttc tgctgggccc ccttcttctt ccacctggtc      9 00
ctcatcatca cctgccccac caaccctac tgcactctgt aactgccc a tttcaacacc      9 60
tacctgggtc tcatcatgtg caactccgtc atcgaccac tcatctacgc tttccggagc     10 20
ctggaattgc gcaacacctt tagggagatt ctctgtggct gcaacggcat gaacttggga     10 80

```

<210> 75

5 <211> 360

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 75



ES 2 363 023 T3

Met Ser Ile Gln Lys Thr Tyr Leu Glu Gly Asp Phe Val Phe Pro Val  
 1 5 10 15

Ser Ser Ser Ser Phe Leu Arg Thr Leu Leu Glu Pro Gln Leu Gly Ser  
 20 25 30

Ala Leu Leu Thr Ala Met Asn Ala Ser Cys Cys Leu Pro Ser Val Gln  
 35 40 45

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

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

ES 2 363 023 T3

Val Phe Leu Ser Leu Gly Ile Val Ser Leu Leu Glu Asn Ile Leu Val  
85 90 95

Ile Leu Ala Val Val Arg Asn Gly Asn Leu His Ser Pro Met Tyr Phe  
100 105 110

Phe Leu Cys Ser Leu Ala Val Ala Asp Met Leu Val Ser Val Ser Asn  
115 120 125

Ala Leu Glu Thr Ile Met Ile Ala Ile Val His Ser Asp Tyr Leu Thr  
130 135 140

Phe Glu Asp Gln Phe Ile Gln His Met Asp Asn Ile Phe Asp Ser Met  
145 150 155 160

Ile Cys Ile Ser Leu Val Ala Ser Ile Cys Asn Leu Leu Ala Ile Ala  
165 170 175

Val Asp Arg Tyr Val Thr Ile Phe Tyr Ala Leu Arg Tyr His Ser Ile  
180 185 190

Met Thr Val Arg Lys Ala Leu Thr Leu Ile Val Ala Ile Trp Val Cys  
195 200 205

Cys Gly Val Cys Gly Val Val Phe Ile Val Tyr Ser Glu Ser Lys Met  
210 215 220

Val Ile Val Cys Leu Ile Thr Met Phe Phe Ala Met Met Leu Leu Met  
225 230 235 240

Gly Thr Leu Tyr Val His Met Phe Leu Phe Ala Arg Leu His Val Lys  
245 250 255

Arg Ile Ala Ala Leu Pro Pro Ala Asp Gly Val Ala Pro Gln Gln His  
260 265 270

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

Ile Phe Cys Trp Ala Pro Phe Phe Leu His Leu Val Leu Ile Ile Thr  
290 295 300

Cys Pro Thr Asn Pro Tyr Cys Ile Cys Tyr Thr Ala His Phe Asn Thr  
305 310 315 320

Tyr Leu Val Leu Ile Met Cys Asn Ser Val Ile Asp Pro Leu Ile Tyr  
325 330 335

ES 2 363 023 T3

Ala Phe Arg Ser Leu Glu Leu Arg Asn Thr Phe Arg Glu Ile Leu Cys  
 340 345 350

Gly Cys Asn Gly Met Asn Leu Gly  
 355 360

<210> 76

<211> 999

5 <212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 76

```

atggtgaact ccaccaccg tgggatgcac acttctctgc acctctggaa cgcgagcagt      60
tacagactgc acagcaatgc cagtgagtc cttggaaaag gctactctga tggaggggtgc      120
tacgagcaac tttttgtctc tcctgaggtg tttgtgactc tgggtgtcat cagcttgttg      180
gagaatatct tagtgattgt ggcaatagcc aagaacaaga atctgcattc acccatgtac      240
tttttcatct gcagcttggc tgtggctgat atgctggtga gcgtttcaa tggatcagaa      300
accattatca tcaccctatt aaacagtaca gatacggatg cacagagttt cacagtgaat      360
attgataatg tcattgactc ggtgatctgt agctccttgc ttgcatccat ttgcagcctg      420
ctttcaattg cagtggacag gtactttact atcttctatg ctctccagta ccataacatt      480
atgacagtta agcggggttg gatcatcata agttgtatct gggcagcttg cacggtttca      540
ggcattttgt tcatcattta ctcagatagt agtgctgtca tcatctgcct catcaccatg      600
ttcttcacca tgctggctct catggcttct ctctatgtcc acatgttccat gatggccagg      660
cttcacatta agaggattgc tgtcctcccc ggcactgggtg ccatccgcca aggtgccaat      720
atgaagggag cgattacctt gaccatcctg attggcgtct ttgttgtctg ctgggccccca      780
ttcttctctc acttaatatt ctacatctct tgtcctcaga atccatattg tgtgtgcttc      840
atgtctcact ttaacttgta tctcactctg atcatgtgta attcaatcat cgatcctctg      900
atztatgcac tccggagtca agaaCTgagg aaaaccttca aagagatcat ctgttgctat      960
ccctggggag gcctttgtga cttgtcttagc agatattaa      999
    
```

10

<210> 77

<211> 332

<212> PRT

<213> Homo sapiens

15 <400> 77

Met Val Asn Ser Thr His Arg Gly Met His Thr Ser Leu His Leu Trp  
1 5 10 15  
Asn Arg Ser Ser Tyr Arg Leu His Ser Asn Ala Ser Glu Ser Leu Gly  
20 25 30  
Lys Gly Tyr Ser Asp Gly Gly Cys Tyr Glu Gln Leu Phe Val Ser Pro  
35 40 45  
Glu Val Phe Val Thr Leu Gly Val Ile Ser Leu Leu Glu Asn Ile Leu  
50 55 60  
Val Ile Val Ala Ile Ala Lys Asn Lys Asn Leu His Ser Pro Met Tyr  
65 70 75 80  
Phe Phe Ile Cys Ser Leu Ala Val Ala Asp Met Leu Val Ser Val Ser  
85 90 95  
Asn Gly Ser Glu Thr Ile Ile Ile Thr Leu Leu Asn Ser Thr Asp Thr  
100 105 110  
Asp Ala Gln Ser Phe Thr Val Asn Ile Asp Asn Val Ile Asp Ser Val  
115 120 125  
Ile Cys Ser Ser Leu Leu Ala Ser Ile Cys Ser Leu Leu Ser Ile Ala  
130 135 140  
Val Asp Arg Tyr Phe Thr Ile Phe Tyr Ala Leu Gln Tyr His Asn Ile  
145 150 155 160  
Met Thr Val Lys Arg Val Gly Ile Ile Ile Ser Cys Ile Trp Ala Ala  
165 170 175  
Cys Thr Val Ser Gly Ile Leu Phe Ile Ile Tyr Ser Asp Ser Ser Ala  
180 185 190  
Val Ile Ile Cys Leu Ile Thr Met Phe Phe Thr Met Leu Ala Leu Met  
195 200 205  
Ala Ser Leu Tyr Val His Met Phe Leu Met Ala Arg Leu His Ile Lys  
210 215 220  
Arg Ile Ala Val Leu Pro Gly Thr Gly Ala Ile Arg Gln Gly Ala Asn  
225 230 235 240  
Met Lys Gly Ala Ile Thr Leu Thr Ile Leu Ile Gly Val Phe Val Val  
245 250 255  
Cys Trp Ala Pro Phe Phe Leu His Leu Ile Phe Tyr Ile Ser Cys Pro  
260 265 270

ES 2 363 023 T3

Gln Asn Pro Tyr Cys Val Cys Phe Met Ser His Phe Asn Leu Tyr Leu  
 275 280 285

Ile Leu Ile Met Cys Asn Ser Ile Ile Asp Pro Leu Ile Tyr Ala Leu  
 290 295 300

Arg Ser Gln Glu Leu Arg Lys Thr Phe Lys Glu Ile Ile Cys Cys Tyr  
 305 310 315 320

Pro Leu Gly Gly Leu Cys Asp Leu Ser Ser Arg Tyr  
 325 330

<210> 78

<211> 975

5 <212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 78

```

atgaattcct cattcacct gcatttcttg gatctcaacc tgaatgccac agagggcaac      60
ctttcaggac ccaatgtcaa aaacaagtct tcaccatgtg aagacatggg cattgctgtg      120
gaggtgtttc tcaactctggg tgtcatcagc ctcttggaga acatcttggg cataggggccc      180
atagtgaaga acaaaaacct gcactcccc atgtacttct tcgtgtgcag cctggcagtg      240
gcggacatgc tggtagcat gtccagtgcc tgggagacca tcaccatcta cctactcaac      300
aacaagcacc tagtgatagc agacgccttt gtgcgccaca ttgacaatgt gtttgactcc      360
atgatctgca tttcctggtt ggcattccatg tgcagcttac tggccattgc agtggatagg      420
tacgtcacca tcttctacgc cctgcgctac caccacatca tgacggcgag gcgctcaggg      480
gccatcatcg ccggcatctg ggctttctgc acgggctgag gcattgtctt catcctgtac      540
tcagaatcca cctacgtcat cctgtgcctc atctccatgt tcttcgctat gctgttcctc      600
ctgggtgtctc tgtacataca catgttcctc ctggcgcgga ctcacgtcaa gcggatcgcg      660
gctctgcccg gggccagctc tgcgcggcag aggaccagca tgcagggcgc ggtcaccgtc      720
accatgctgc tgggctgttt taccgtgtgc tgggccccgt tcttccttca tctcacttta      780
atgctttctt gccctcagaa cctctactgc tctcgcttca tgtctcactt caatatgtac      840
ctcacttca tcatgtgtaa ttccgtgatg gaccctctca tatatgcctt ccgcagccaa      900
gagatgcgga agaccttcaa ggagattatt tgetgcogtg gtttcaggat cgctgcagc      960
tttcccagaa gggat
                                                                                                                                 975
    
```

10

<210> 79

<211> 325

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 79

ES 2 363 023 T3

Met Asn Ser Ser Phe His Leu His Phe Leu Asp Leu Asn Leu Asn Ala  
1 5 10 15

Thr Glu Gly Asn Leu Ser Gly Pro Asn Val Lys Asn Lys Ser Ser Pro  
20 25 30

Cys Glu Asp Met Gly Ile Ala Val Glu Val Phe Leu Thr Leu Gly Val  
35 40 45

Ile Ser Leu Leu Glu Asn Ile Leu Val Ile Gly Ala Ile Val Lys Asn  
50 55 60

Lys Asn Leu His Ser Pro Met Tyr Phe Phe Val Cys Ser Leu Ala Val  
65 70 75 80

Ala Asp Met Leu Val Ser Met Ser Ser Ala Trp Glu Thr Ile Thr Ile  
85 90 95

Tyr Leu Leu Asn Asn Lys His Leu Val Ile Ala Asp Ala Phe Val Arg  
100 105 110

His Ile Asp Asn Val Phe Asp Ser Met Ile Cys Ile Ser Val Val Ala  
115 120 125

Ser Met Cys Ser Leu Leu Ala Ile Ala Val Asp Arg Tyr Val Thr Ile  
130 135 140

Phe Tyr Ala Leu Arg Tyr His His Ile Met Thr Ala Arg Arg Ser Gly  
145 150 155 160

Ala Ile Ile Ala Gly Ile Trp Ala Phe Cys Thr Gly Cys Gly Ile Val  
165 170 175

Phe Ile Leu Tyr Ser Glu Ser Thr Tyr Val Ile Leu Cys Leu Ile Ser  
180 185 190

Met Phe Phe Ala Met Leu Phe Leu Leu Val Ser Leu Tyr Ile His Met  
195 200 205

Phe Leu Leu Ala Arg Thr His Val Lys Arg Ile Ala Ala Leu Pro Gly  
210 215 220

Ala Ser Ser Ala Arg Gln Arg Thr Ser Met Gln Gly Ala Val Thr Val  
225 230 235 240

Thr Met Leu Leu Gly Val Phe Thr Val Cys Trp Ala Pro Phe Phe Leu  
 245 250 255

His Leu Thr Leu Met Leu Ser Cys Pro Gln Asn Leu Tyr Cys Ser Arg  
 260 265 270

Phe Met Ser His Phe Asn Met Tyr Leu Ile Leu Ile Met Cys Asn Ser  
 275 280 285

Val Met Asp Pro Leu Ile Tyr Ala Phe Arg Ser Gln Glu Met Arg Lys  
 290 295 300

Thr Phe Lys Glu Ile Ile Cys Cys Arg Gly Phe Arg Ile Ala Cys Ser  
 305 310 315 320

Phe Pro Arg Arg Asp  
 325

<210> 80

<211> 12

5 <212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 80

catttcgct gg 12

<210> 81

10 <211> 4

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 81

His Phe Arg Trp  
 1

15

<210> 82

<211> 12

<212> ADN

20 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Modificación de núcleo de HFRW de alfa-MSH

<400> 82



ttcattgga tg 12

<210> 83

<211> 4

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Modificación de núcleo de HFRW de alfa-MSH

<400> 83

Phe His Trp Met

10 1

<210> 84

<211> 12

<212> ADN

15 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido flexible

<400> 84

ggcggcggca gc 12

20 <210> 85

<211> 4

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

25 <223> Péptido flexible

<400> 85

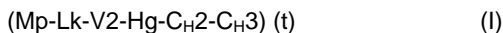
Gly Gly Gly Ser

1

30

## REIVINDICACIONES

1. Un polipéptido de acuerdo con fórmula (I):



- 5 en la que Mp es una molécula de unión a receptor de melanocortina, Lk es engarce químico o polipeptídico, V2 es una parte de un extremo C terminal de una región variable de inmunoglobulina, Hg es al menos una parte de una región bisagra variable de inmunoglobulina, C<sub>H2</sub> es una región constante C<sub>H2</sub> de cadena pesada de inmunoglobulina y C<sub>H3</sub> es una región constante C<sub>H3</sub> de cadena pesada de inmunoglobulina y t es independientemente un número entero de 1 a 10.
- 10 2. El polipéptido de la reivindicación 1 en el que Mp es un fragmento biológicamente activo de SEC ID N°: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16 ó 18; o Mp tiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEC ID N°: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, ó 18.
3. El polipéptido de la reivindicación 1 en el que el polipéptido se une al menos a un receptor de melanocortina.
4. El polipéptido de la reivindicación 3 en el que el receptor de melanocortina es un receptor de melanocortina
5. Un polipéptido que comprende SEC ID N°: 60 ó 62.
- 15 6. Un polinucleótido que codifica un polipéptido de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5.
7. Un polinucleótido que comprende SEC ID N°: 59 o SEC ID N°: 61 o un polinucleótido complementario a SEC ID N°: 59 o SEC ID N°: 61.
8. Un polinucleótido que comprende un polinucleótido que codifica el polipéptido de SEC ID N°: 60 o SEC ID N°: 62.
9. Un vector que comprende el polinucleótido de la reivindicación 7 u 8.
- 20 10. El vector de la reivindicación 9 que comprende SEC ID N°: 63.
11. Una célula que expresa un polipéptido de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5.
12. Una célula que comprende el vector de la reivindicación 9.
13. La célula de la reivindicación 12 siendo la célula una célula derivada de HEK293.
- 25 14. Un procedimiento para producir un polipéptido que comprende las etapas de cultivar la célula de la reivindicación 11 y purificar el polipéptido expresado.
15. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad eficaz de al menos un polipéptido de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 y un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.
16. Un polipéptido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 para su uso en medicina.
- 30 17. Un polipéptido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 para modular al menos una afección mediada por receptor de melanocortina.
18. El polipéptido de la reivindicación 17 en el que la afección mediada por receptor de melanocortina es la obesidad.

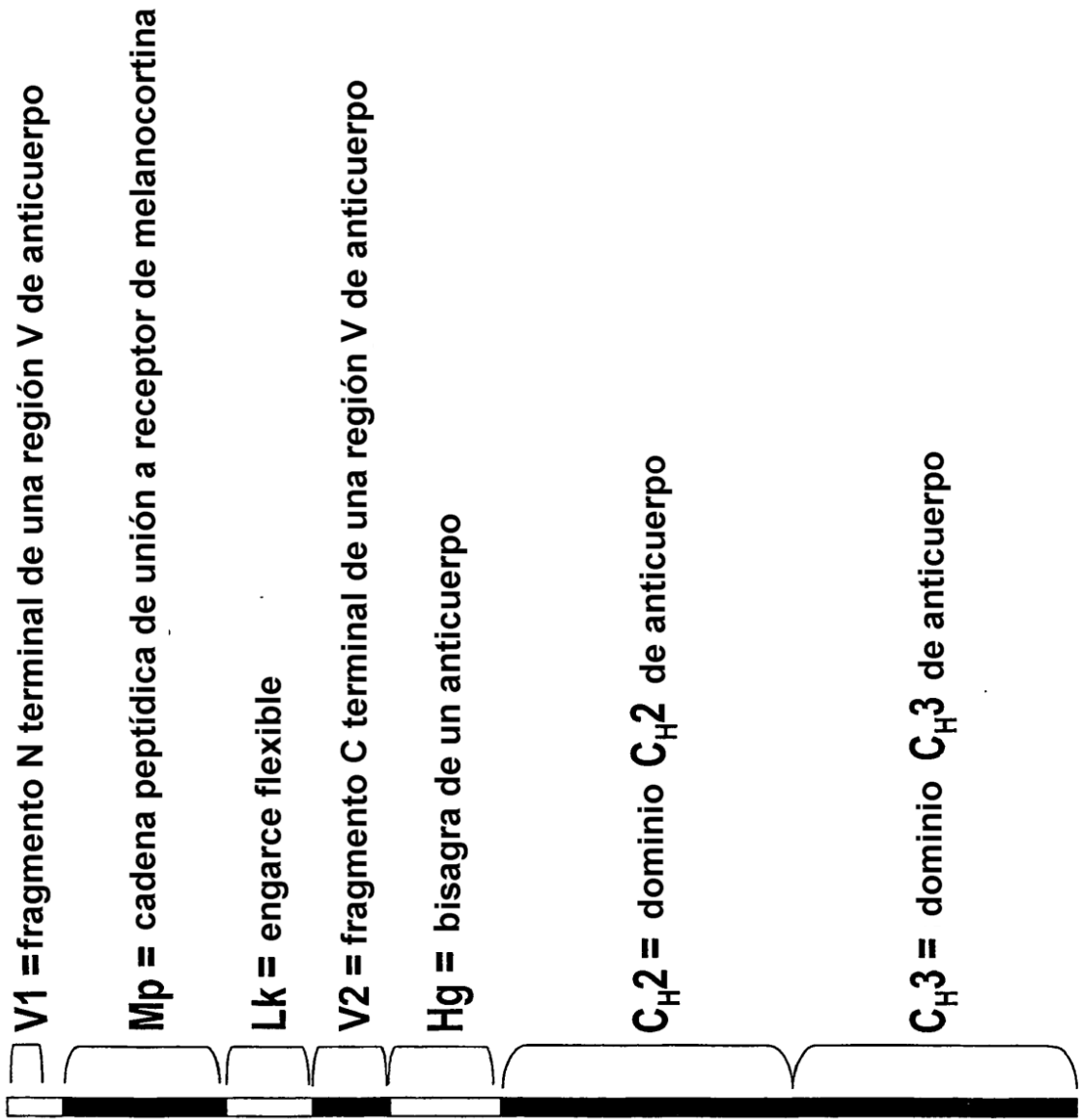


Fig. 1

Fig. 2

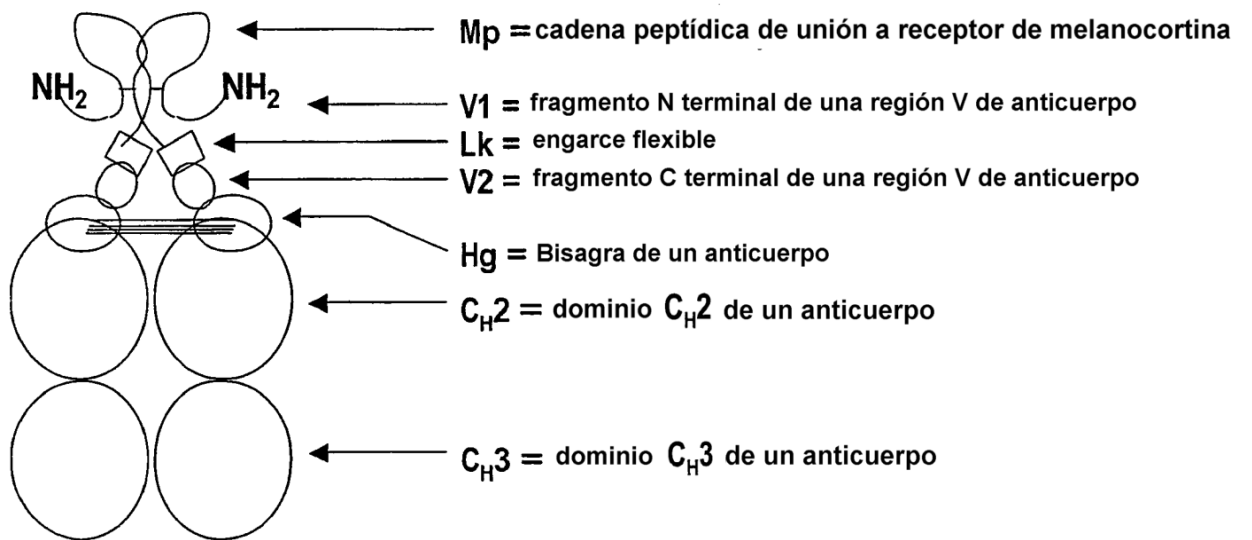


Fig. 3

SECUENCIA SEÑAL .....

Met Ala Trp Val Trp Thr Leu Leu Phe Leu Met Ala Ala Ala Gln  
ATG GCT TGG GTG TGG ACC TTG CTA TTC CTG ATG GCG GCC GCC CAA

.....V1..... alfa-MSH.....

Ser Ile Gln Ala Gln Ile Gln Ser Tyr Ser Met Glu His Phe Arg  
 AGT ATA CAG GCC CAG ATC CAG TCC TAC TCC ATG GAG CAC TTC CGC

.....ENGARCE..... V<sub>B</sub>.....

Trp Gly Lys Pro Val Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Thr Leu  
 TGG GGC AAG CCG GTG GGA TCC GGT GGA GGC TCC GGT ACC TTA

.....BISAGRA.....

Val Thr Val Ser Ser Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr  
 GTC ACC GTC TCC TCA GAG CCC AAA TCT TGT GAC AAA ACT CAC ACG

.....C<sub>B2</sub>.....

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val  
 TGC CCA CCG TGC CCA GCA CCT GAA CTC CTG GGG GGA CCG TCA GTC

.....

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg  
 TTC CTC TTC CCC CCA AAA CCC AAG GAC ACC CTC ATG ATC TCC CGG

.....

Thr Pro glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp  
 ACC CCT GAG GTC ACA TGC GTG GTG GTG GAC GTG AGC CAC GAA GAC

.....

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His  
 CCT GAG GTC AAG TTC AAC TGG TAC GTG GAC GGC GTG GAG GTG CAT

.....

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr tyr  
 AAT GCC AAG ACA AAG CCG CGG GAG GAG CAG TAC AAC AGC ACG TAC

.....

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn  
 CGG GTG GTC AGC GTC CTC ACC GTC CTG CAC CAG GAC TGG CTG AAT

.....

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

FIG. 3-Cont.

GGC AAG GAG TAC AAG TGC AAG GTC TCC AAC AAA GCC CTC CCA GCC

..... C<sub>3</sub>.....  
 Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu  
 CCC ATC GAG AAA ACC ATC TCC AAA GCC AAA GGG CAG CCC CGA GAA

.....  
 Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys  
 CCA CAG GTG TAC ACC CTG CCC CCA TCC CGG GAT GAG CTG ACC AAG

.....  
 Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser  
 AAC CAG GTC AGC CTG ACC TGC CTG GTC AAA GGC TTC TAT CCC AGC

.....  
 Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn  
 GAC ATC GCC GTG GAG TGG GAG AGC AAT GGG CAG CCG GAG AAC AAC

.....  
 Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe  
 TAC AAG ACC ACG CCT CCC GTG CTG GAC TCC GAC GGC TCC TTC TTC

.....  
 Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly  
 CTC TAC AGC AAG CTC ACC GTG GAC AAG AGC AGG TGG CAG CAG GGG

.....  
 Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His  
 AAC GTC TTC TCA TGC TCC GTG ATG CAT GAG GCT CTG CAC AAC CAC

..... PARADA  
 Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 TAC ACG CAG AAG AGC CTC TCC CTG TCT CCG GGT AAA TGA

FIG. 4

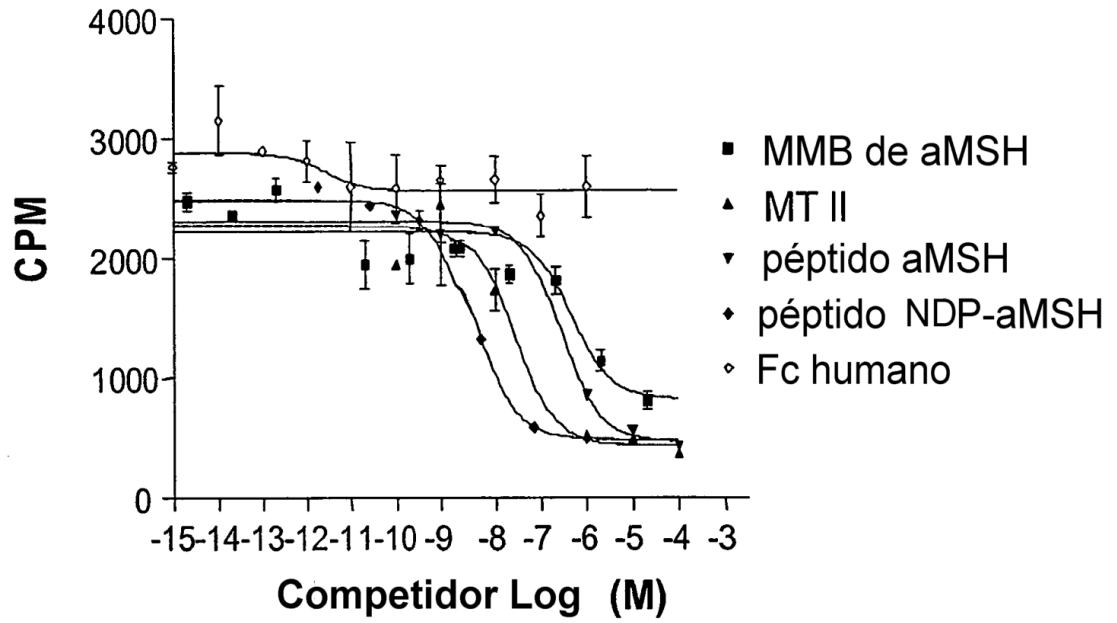


FIG. 5

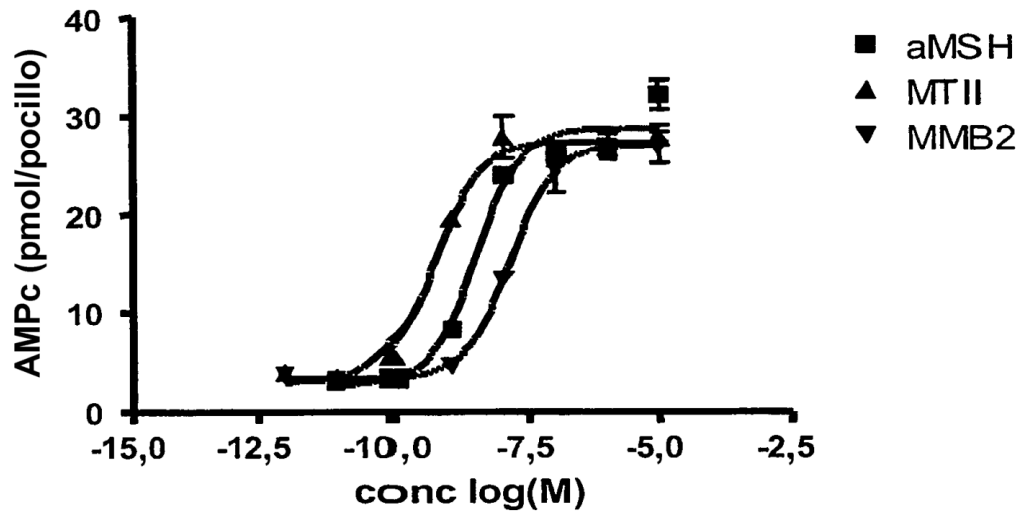




FIG. 6

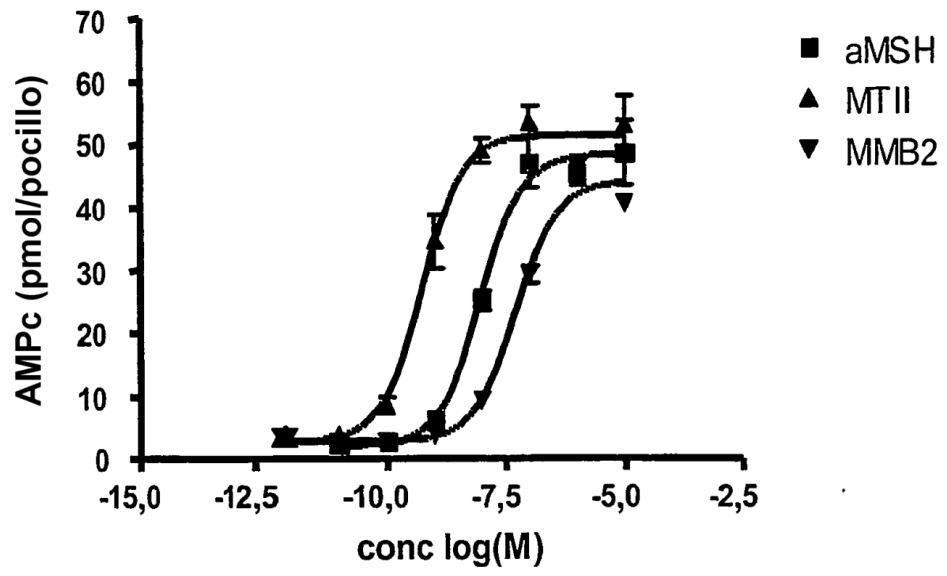


FIG. 7

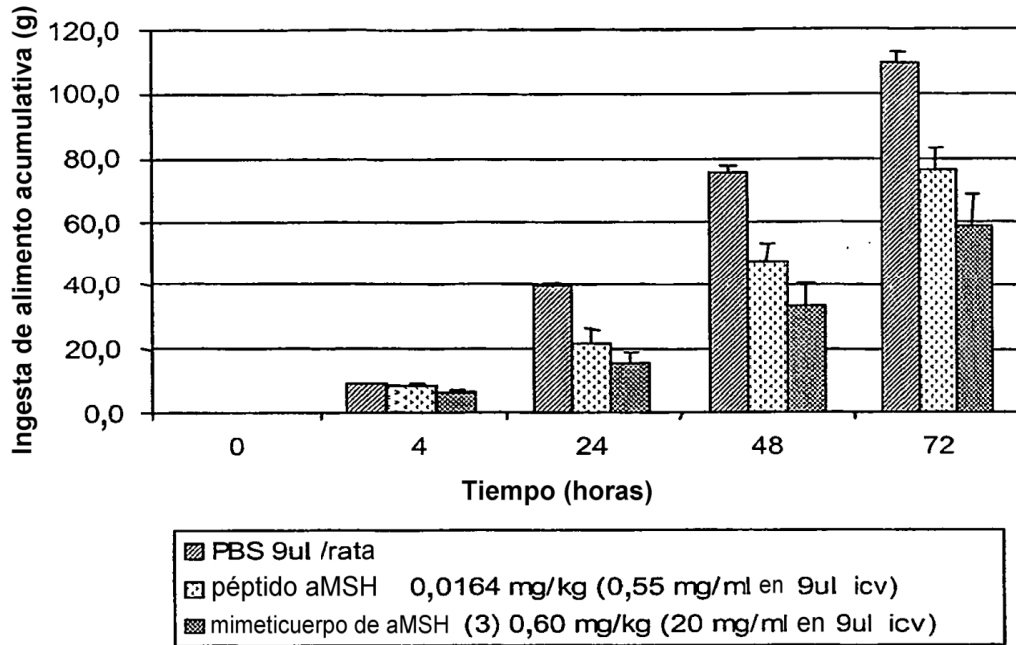


FIG. 8

