

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 399 618**

51 Int. Cl.:

A61K 47/48 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.08.2006 E 06789737 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **05.12.2012 EP 1928502**

54 Título: **Moléculas Fc modificadas**

30 Prioridad:

12.08.2005 US 707842 P
10.08.2006 US 502761

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
02.04.2013

73 Titular/es:

AMGEN, INC (100.0%)
Patent Operations M/S 28-2-C, One Amgen Center
Drive
THOUSAND OAKS, CA 91320-1799, US

72 Inventor/es:

GEGG, JR., COLIN V.;
WALKER, KENNETH W.;
MIRANDA, LESLIE P. y
XIONG, FEI

74 Agente/Representante:

MILTENYI, Peter

ES 2 399 618 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

Moléculas Fc modificadas

Antecedentes de la invención

1. Campo de la técnica

5 La presente invención se refiere a las técnicas bioquímicas, particularmente a conjugados con dominios Fc de inmunoglobulina.

2. Discusión de la técnica relacionada

10 El dominio Fc de inmunoglobulina ha encontrado un uso extendido como proteína portadora para una variedad de moléculas terapéuticas y de diagnóstico. Los anticuerpos comprenden dos partes funcionalmente independientes, un dominio variable conocido como "Fab", que se une al antígeno, y un dominio constante conocido como "Fc", que se relaciona con funciones efectoras tales como activación del complemento y ataque por células fagocíticas. Un Fc tiene una semivida sérica larga, mientras que un Fab tiene una vida corta. (Capon *et al.* (1989), Nature 337: 525-31). Cuando se construye junto con un péptido o proteína terapéutica, un dominio Fc puede proporcionar una semivida más larga, o puede incorporar funciones tales como unión a receptor de Fc, unión a proteína A, fijación del complemento y quizá incluso transferencia placentaria. Ídem.

15 Se han diseñado por ingeniería genética numerosas fusiones de proteínas y péptidos en los extremos o bien amino o bien carboxilo terminal. Además, se han conjugado químicamente una variedad de enzimas y moléculas indicadoras sintéticas con las cadenas laterales de aminoácidos no terminales así como los restos de hidrato de carbono derivatizados del dominio Fc. Además, se han conjugado varios polímeros, tales como polietilenglicol (PEG), con el dominio Fc con el propósito de mejorar la semivida *in vivo* y reducir la inmunogenicidad.

20 El éxito del fármaco Enbrel[®] (etanercept) llevó a buen término la promesa de agentes terapéuticos modificados con el dominio constante de un anticuerpo. La tabla 1 resume varios ejemplos el uso de proteínas de fusión de Fc conocidos en la técnica.

Tabla 1. Fusión de Fc con proteínas terapéuticas

Forma de Fc	Pareja de fusión	Implicaciones terapéuticas	Referencia
IgG1	Extremo N-terminal de CD30-L	Enfermedad de Hodgkin; linfoma anaplásico; leucemia de células T	Patente estadounidense n.º 5.480.981
Fc γ 2a murino	IL-10	Antiinflamatorio; rechazo de trasplantes	Zheng <i>et al.</i> , (1995), J. Immunol. 154: 5590-600
IgG1	Receptor de TNF	Choque septicémico	Fisher <i>et al.</i> (1996), N. Engl. J. Med. 334: 1697-1702; Van Zee. K. <i>et al.</i> (1996), J. Immunol. 156: 2221-30
IgG, IgA, IgM o IgE (excluyendo el primer dominio)	Receptor de TNF	Inflamación, trastornos autoinmunitarios	Patente estadounidense n.º 5.808.029, expedida el 15 de septiembre de 1998
IgG1	Receptor de CD4	SIDA	Capon <i>et al.</i> (1989), Nature 337: 525-31
IgG1, IgG3	Extremo N-terminal de IL-2	Anticancerígeno, antiviral	Harvill <i>et al.</i> (1995), Immunotech. 1: 95-105
IgG1	Extremo C-terminal de OPG	Osteoartritis; densidad ósea	Documento WO 97/23614, publicado el 3 de julio de 1997
IgG1	Extremo N-terminal de leptina	Antiobesidad	Documento WO 98/28427, presentado el 11 de diciembre de 1997
Ig C α 1 humana	CTLA-4	Trastornos autoinmunitarios	Linsley (1991), J. Exp. Med. 174:561-9

25 Un desarrollo más reciente es la fusión de péptidos generados al azar con el dominio Fc. Véase la patente estadounidense n.º 6.660.843, expedida el 9 de diciembre de 2003 concedida a Feige *et al.* Tales moléculas han llegado a conocerse como "pepticuerpos". Incluyen uno o más péptidos unidos al extremo N-terminal, extremo C-terminal, cadenas laterales de aminoácidos o a más de uno de estos sitios. La tecnología de pepticuerpos permite diseñar los agentes terapéuticos que incorporan péptidos que seleccionan como diana uno o más ligandos o receptores, péptidos que se dirigen a tumores, péptidos que se transportan por la membrana, y similares. La tecnología de pepticuerpos ha demostrado ser útil en el diseño de varias de tales moléculas, incluyendo péptidos lineales y constreñidos por puentes disulfuro, "multímeros peptídicos en tándem" (es decir, más de un péptido en

30

una única cadena de un dominio Fc). Véanse, por ejemplo, la patente estadounidense n.º 6.660.843; la solicitud de patente estadounidense n.º 2003/0195156 A1, publicada el 16 de octubre de 2003 (correspondiente al documento WO 02/092620, publicado el 21 de noviembre de 2002); la solicitud de patente estadounidense n.º 2003/0176352, publicada el 18 de septiembre de 2003 (correspondiente al documento WO 03/031589, publicado el 17 de abril de 2003); el documento U.S. con número de serie 09/422.838, presentado el 22 de octubre de 1999 (correspondiente al documento WO 00/24770, publicado el 4 de mayo de 2000); la solicitud de patente estadounidense n.º 2003/0229023, publicada el 11 de diciembre de 2003; el documento WO 03/057134, publicado el 17 de julio de 2003; la solicitud de patente estadounidense n.º 2003/0236193, publicada el 25 de diciembre de 2003 (correspondiente al documento PCT/US04/010989, presentado el 8 de abril de 2004); el documento U.S. con número de serie 10/666.480, presentado el 18 de septiembre de 2003 (correspondiente al documento WO 04/026329, publicado el 1 de abril de 2004), la solicitud de patente estadounidense n.º 2006/0140934, publicada el 29 de junio de 2006 (correspondiente al documento WO 2006/036834, publicado el 4 de abril de 2006). La técnica se beneficiaría de una tecnología adicional que permitiese tal diseño racional de agentes terapéuticos polipeptídicos.

Los enfoques convencionales para la conjugación química con el dominio Fc de inmunoglobulina incluyen acoplamiento al azar con aminos primarias que se producen de manera natural tales como lisina y el extremo amino terminal o ácidos carboxílicos tales como ácido glutámico, ácido aspártico y el extremo carboxilo terminal. Alternativamente, puede lograrse un acoplamiento específico de sitio semiselectivo a través de conjugación N-terminal en condiciones apropiadas, o hidratos de carbono derivatizados tal como se encuentran en proteínas Fc aisladas de fuentes eucariotas, o mediante reducción parcial y acoplamiento de residuos de cisteína nativos. (Por ejemplo, Kim *et al.*, A pharmaceutical composition comprising an immunoglobulin Fc region as a carrier, documento WO 2005/047337). Aunque cada uno de estos enfoques se ha aplicado satisfactoriamente, normalmente se ven afectados por grados variables de heterogeneidad del conjugado, rendimientos relativamente bajos y, algunas veces, también se observan pérdidas significativas en la actividad funcional. La técnica se beneficiaría de un procedimiento para la conjugación selectiva, específica de sitio con el dominio Fc de inmunoglobulina sin pérdida significativa en la actividad funcional.

Sumario de la invención

La presente invención se refiere a composiciones de materia y a un procedimiento para prepararlas. La composición de materia de la invención, que es un compuesto farmacológicamente activo, comprende un dominio Fc monomérico o multimérico que tiene al menos un resto funcional adicional que se une covalentemente (o se conjuga), o bien directamente o bien a través de un ligador, con uno o más sitios de conjugación específicamente seleccionado(s) en el dominio Fc a través de la cadena lateral de un residuo de aminoácido en el/los sitio(s) de conjugación, en la que el residuo de aminoácido en el sitio de conjugación específicamente seleccionado es un residuo de cisteína añadido al dominio Fc mediante sustitución en un sitio de Fc seleccionado del grupo que consiste en Leu139, Gln143, Ser145 y Ser196, en relación con la secuencia de referencia SEQ ID NO: 599, o una combinación de cualquiera de éstos. Un sitio de conjugación interno de este tipo puede estar ya presente en una secuencia de dominio Fc nativo o puede añadirse mediante inserción (es decir, entre aminoácidos en el dominio Fc nativo) o mediante reemplazamiento (es decir, eliminado residuo(s) de aminoácido y sustituyendo diferente(s) residuo(s) de aminoácido canónico(s) y/o no canónico(s)) en la secuencia de dominio Fc nativo con el fin de crear o "modificar por ingeniería genética" el sitio de conjugación. En este último caso, el número de residuos de aminoácido añadidos no corresponde necesariamente al número de residuos de aminoácido eliminados de la secuencia de dominio Fc previamente existente.

Este procedimiento de la invención de preparación de un compuesto farmacológicamente activo que comprende un dominio Fc incluye:

a. seleccionar al menos un sitio de conjugación interno de una secuencia de dominio Fc, siendo dicho sitio de conjugación un residuo de cisteína añadido al dominio Fc mediante sustitución en un sitio de Fc seleccionado del grupo que consiste en Leu139, Gln143, Ser145 y Ser196, en relación con la secuencia de referencia SEQ ID NO: 599, o una combinación de cualquiera de éstos, siendo dicho sitio de conjugación propenso a la conjugación de un resto adicional mediante una química de acoplamiento definida a través de la cadena lateral de un residuo de aminoácido en el sitio de conjugación; y

b. conjugar un resto funcional predeterminado con el sitio de conjugación seleccionado empleando la química de conjugación definida.

En algunas realizaciones, el resto funcional es un resto que prolonga la semivida y/o un resto farmacológicamente activo, que puede ser, por ejemplo, un polipéptido, un péptido, un peptidomimético o un resto orgánico no peptídico. En otras realizaciones, el resto funcional adicional es un resto marcado de manera detectable con un radioisótopo, una enzima (por ejemplo, una peroxidasa o una cinasa), un resto de biotínulo, un fluoróforo o un cromóforo. Alternativamente, el resto funcional adicional es un sustrato inmovilizado tal como, pero sin limitarse a, una superficie de una placa, una perla, una partícula, una micropartícula, una nanopartícula, un chip, un liposoma, una matriz, o similares, siempre que en una cadena de restos funcionales adicionales, el sustrato inmovilizado sea el resto adicional más distal del dominio Fc, y puede haber no más de un sustrato inmovilizado en la cadena.

El procedimiento de la invención puede emplearse para modificar un dominio Fc que ya está unido a través de un

extremo N o C-terminal o una cadena lateral a un polipéptido (por ejemplo, un fragmento soluble de TNF-R2, como en etanercept) o a un péptido (por ejemplo, tal como se describe en las solicitudes de patente estadounidense n.^{os} 2003/0195156 A1, 2003/0176352, 2003/0229023 y 2003/0236193; documento WO 00/24770; documento WO 04/026329). El procedimiento descrito a lo largo de todo el documento puede emplearse también para modificar un dominio Fc que es parte de un anticuerpo (por ejemplo, adalimumab, epratuzumab, infliximab, Herceptin[®], y similares). De este modo, pueden producirse diferentes moléculas que tienen funcionalidades adicionales, tales como un dominio de unión a un epítipo diferente, un dominio de unión adicional al epítipo existente de la molécula precursora o un resto que prolonga la semivida adicional.

Los compuestos de esta invención pueden prepararse mediante métodos sintéticos convencionales, técnicas de ADN recombinante o cualquier otro método de preparación de péptidos y proteínas de fusión con referencia a la descripción de esta memoria descriptiva.

Los compuestos de esta invención pueden usarse para fines terapéuticos o profilácticos formulándolos mediante métodos conocidos para otras moléculas proteínicas y administrando una cantidad eficaz a un paciente, tal como un ser humano (u otro mamífero) que lo necesita. También se incluyen otros aspectos relacionados en la presente invención.

Numerosos aspectos y ventajas adicionales de la presente invención resultarán evidentes tras la consideración de las figuras y la descripción detallada de la invención.

Breve descripción de las figuras

La figura 1 muestra un subconjunto preferido (resaltado) de posiciones de residuos de aminoácido para su modificación como sitio(s) de conjugación a partir del superconjunto de residuos de superficie expuestos al disolvente (véase la tabla 2) en una secuencia de dominio Fc de IgG1 humana (SEQ ID NO: 600). Los residuos subrayados no están presentes en la estructura de cristal 1FC1, y muchos de estos residuos son buenos candidatos para la modificación (por ejemplo, inserción o sustitución de residuos de aminoácido) para la creación de un sitio de conjugación, particularmente los siguientes residuos de aminoácido a partir del fragmento amino-terminal (primeros dieciocho residuos de aminoácido): DKTHTC...C.A.E...GG, es decir, a través de una cadena lateral en la subsecuencia en las posiciones 1 a 6 de SEQ ID NO:600, en la posición 9 de SEQ ID NO:600, en la posición 11 de SEQ ID NO: 600, en la posición 13 de SEQ ID NO:600, en la posición 16 de SEQ ID NO:600, en la posición 17 de SEQ ID NO:600, y los siguientes aminoácidos a partir del fragmento carboxilo-terminal: .GK, es decir, un sitio no terminal en la posición 226 de SEQ ID NO:600, o la posición 227 de SEQ ID NO:600.

La figura 2 muestra (SEQ ID NO:599) la secuencia del monómero de Fc de IgG1 humana con las secuencias de región de bucle pronosticadas en negrita; la metionina N-terminal se añade para la expresión a partir de *E. coli* y no está presente por lo demás en la secuencia de IgG1 nativa (secuencia de referencia SEQ ID NO:600). Los residuos de aminoácido útiles como sitios preferidos para la inserción o sustitución de residuos de aminoácido para la creación de un sitio de conjugación están subrayados.

La figura 3 muestra (SEQ ID NO:599) la secuencia del monómero de Fc de IgG1 humana con las secuencias de región de bucle pronosticadas en negrita. Las posiciones de residuos de aminoácido útiles como sitios de conjugación también incluyen las subrayadas. Se indican sitios de conjugación expuestos en la superficie preferidos seleccionados de la figura 1 resaltados en este caso.

La figura 4 muestra los sitios de mutación de cisteínas propuestos mapeados en la estructura de Fc. Los residuos de aminoácido identificados mediante flechas designan posiciones en relación con la secuencia de referencia SEQ ID NO:599, tal como sigue:

A: Ser 196, que es el más expuesto al disolvente y está en una hélice rígida.

B: Gln 143, que está en un bolsillo polar profundo y es de la misma hebra que Cys 148.

C: Leu 139, que está en una región de bucle de Fc, y está próximo al extremo C-terminal en un bolsillo polar.

D: Ser 145, que es de la misma hebra que cys 148 y está en un bolsillo polar en una superficie de lámina β en una hendidura entre subunidades.

La figura 5 muestra el análisis en gel de SDS-PAGE (gel de poliacrilamida Tris:glucina al 4-20% durante 1,5 horas a 125V, 35 mA, SDS al 0,1%) de análogos de huFc-cisteína purificados descritos en el ejemplo 2. Carriles: 1, 8 contenían marcadores de PM, los carriles 2, 9 contenían el clon 13300 Fc(Q143C), los carriles 3, 10 contenían el clon 13322 Fc(L139C), los carriles 4, 11 contenían el clon 13323 Fc(S145C) y los carriles 5, 12 contenían el clon 13324 Fc(S196C). Los carriles 2-6 estaban reducidos y los carriles 9-12 estaban no reducidos.

La figura 6 muestra la pureza mediante análisis de SEC-HPLC del clon 13324 huFc(S196C) tal como se describe en el ejemplo 2. Se eluyeron muestras (20 μ g) en fosfato de sodio 100 mM, NaCl 150 mM, pH 6,9 en una columna TSK G3000SWxl, D.I. de 7,8 x 30 cm, tamaño de perlas de 5 μ m) a 0,5 ml/min.

La figura 7 muestra la determinación de pureza y masa mediante CL-EM del clon 13324 huFc(S196C) tal como se describe en el ejemplo 2. Se eluyeron muestras (20 µg) en TFA al 0,1% con un gradiente de acetonitrilo del 0-90% lineal a partir de una columna Zorbax 300SB-C 18, 2,1 mm x 150 cm.

5 La figura 8A muestra el análisis de SDS-PAGE no reducido del análogo de huFc (S196C) pegilado tras grados variables de reducción con TCEP, tal como se describe en el ejemplo 3. Las estequiometrías molares de cisteína modificada por ingeniería genética:TCEP fueron: 1:0 en el carril 1, 1:0,5 en el carril 3, 1:0,75 en el carril 4, 1:1 en el carril 5, 1:1,25 en el carril 6, 1:1,5 en el carril 7, 1:2 en el carril 8 y 1:5 en el carril 9. Los marcadores de PM estaban en el carril 2. Se cargaron 2 µg de proteína no reducida en cada carril y se procesaron en gel de poliacrilamida Tris-glicina al 4-20% con SDS al 0,1% a 125 V, 35 mA y 5 W, durante 1,5 horas.

10 La figura 8B muestra el análisis de SDS-PAGE reducido del análogo de huFc (S196C) pegilado tras grados variables de reducción con TCEP, tal como se describe en el ejemplo 3. Las estequiometrías molares de cisteína modificada por ingeniería genética:TCEP fueron: 1:0 en el carril 2, 1:0,5 en el carril 3, 1:0,75 en el carril 4, 1:1 en el carril 5, 1:1,25 en el carril 6, 1:1,5 en el carril 7, 1:2 en el carril 8 y 1:5 en el carril 9. Los marcadores de PM estaban en el carril 1. Se cargaron 2 µg de proteína reducida en cada carril y se procesaron en gel de poli(acrilamida Tris-glicina al 4-20% con SDS al 0,1% a 125 V, 35 mA y 5 W, durante 1,5 horas.

15

La figura 9 muestra análisis de SEC-HPLC del análogo de huFc (S196C) pegilado tras grados variables de reducción con TCEP, tal como se describe en el ejemplo 3. Se cargaron 20 µg de proteína en una columna TSK 3000SWxl (7,8 mm x 30 cm, 5 micrómetros) y se eluyeron en fosfato de sodio 100 mM, NaCl 150 mM, pH 6,9.

Descripción detallada de realizaciones a modo de ejemplo de la invención

20 Definición de términos

Los términos usados a lo largo de toda esta memoria descriptiva se definen tal como sigue, a menos que se limite de otra manera en casos específicos. Tal como se usa en la memoria descriptiva y en las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares “un”, “una” y “el/la” incluyen referentes plurales a menos que el contexto dicte claramente lo contrario. A menos que se especifique otra cosa, el extremo a mano izquierda de las secuencias de polinucleótido monocatenarias es el extremo 5'; la dirección a mano izquierda de las secuencias de polinucleótido bicatenarias se denomina dirección 5'. La dirección de adición de 5' a 3' de transcritos de ARN nacientes se denomina dirección de transcripción; regiones de secuencia en la hebra de ADN que tienen la misma secuencia que el ARN y que están en 5' con respecto al extremo 5' del transcrito de ARN se denominan “secuencias en el sentido de 5”;

25 regiones de secuencia de la hebra de ADN que tienen la misma secuencia que el ARN y que están en 3' con respecto al extremo 3' del transcrito de ARN se denominan “secuencias en el sentido de 3”.

30

Cuando se usa en relación con una secuencia de aminoácidos, la expresión “que comprende” significa que un compuesto puede incluir residuos de aminoácido adicionales de cualquiera o ambos de los extremos N o C-terminales de la secuencia dada.

35 Un sitio de conjugación que es “propenso a la conjugación” significa que la cadena lateral del residuo de aminoácido en el sitio de conjugación seleccionado reaccionará con el resto funcional adicional de interés (o con un ligador unido covalentemente al resto funcional adicional), en las condiciones químicas definidas, dando como resultado unión covalente del resto funcional adicional (directamente o mediante el ligador) a la cadena lateral como producto de reacción principal.

40 “Anticuerpo” o “péptido(s) de anticuerpo” se refieren a un anticuerpo intacto, o un fragmento de unión del mismo que compite con el anticuerpo intacto por la unión específica e incluye anticuerpos quiméricos, humanizados, completamente humanos y biespecíficos. En determinadas realizaciones, se producen fragmentos de unión mediante técnicas de ADN recombinante. En realizaciones adicionales, se producen fragmentos de unión mediante escisión enzimática o química de anticuerpos intactos. Los fragmentos de unión incluyen, pero no se limitan a, Fab, Fab', F(ab')₂, Fv y anticuerpos de cadena sencilla.

45 La composición de la invención comprende un dominio Fc que tiene al menos un resto funcional adicional unido covalentemente al dominio Fc. El término “dominio Fc” abarca moléculas variantes de Fc y Fc nativas y secuencias tal como se define en el presente documento a continuación. Como con variantes de Fc y Fc nativas, el término “dominio Fc” incluye moléculas en forma monomérica o multimérica, ya se digieran a partir del anticuerpo completo o se produzcan mediante otros medios. En una realización, el dominio Fc es un dominio Fc nativo humano. En otras realizaciones, el “dominio Fc” puede ser una variante, un análogo, un mutante, un truncamiento de Fc o un derivado de Fc humano o de un polipéptido de Fc de mamífero alternativo.

50

El término “Fc nativo” se refiere a una molécula o secuencia que comprende la secuencia de aminoácidos de un fragmento que no se une a antígeno resultante de la digestión del anticuerpo completo, ya sea en forma monomérica o multimérica, al que puede añadirse o conjugarse un péptido uniéndolo covalentemente, directa o indirectamente a través de un ligador, a una región de bucle del dominio Fc. La fuente de inmunoglobulina original del Fc nativo es preferiblemente de origen humano (aunque se incluye Fc nativo de mamífero no humano en “Fc nativo” y puede también ser útil en algunas realizaciones), y puede ser cualquiera de las inmunoglobulinas, aunque se prefieren

55

IgG1 e IgG2. El Fc nativo puede comprender opcionalmente un residuo de metionina amino terminal. A modo de ejemplo, SEQ ID NO:600 es la secuencia de IgG1 humana nativa (usada, en algunos casos, como secuencia de referencia en el presente documento), y la variante de Fc SEQ ID NO:599 (tal como se usa en algunos casos como secuencia de referencia en el presente documento) es la misma secuencia con un residuo de metionina amino terminal. Los Fc nativos están constituidos por polipéptidos monoméricos que pueden unirse en formas diméricas o multiméricas mediante asociación covalente (es decir, enlaces disulfuro) y no covalente. El número de enlaces disulfuro intermoleculares entre subunidades monoméricas de moléculas Fc nativas oscila entre 1 y 4 dependiendo de la clase (por ejemplo, IgG, IgA, IgE) o subclase (por ejemplo, IgG1, IgG2, IgG3, IgA1, IgGA2). Un ejemplo de un Fc nativo es un dímero unido por enlaces disulfuro que resulta de la digestión con papaína de una IgG (véase Ellison *et al.* (1982), *Nucleic Acids Res.* 10: 4071-9). El término "Fc nativo" tal como se usa en el presente documento es genérico para las formas monomérica, dimérica y multimérica.

Afirmaciones o reivindicaciones referentes a posiciones de residuos de aminoácido mencionadas en el presente documento en relación con una "secuencia de referencia" particular (es decir, SEQ ID NO:600 o SEQ ID NO:599) se aplican por igual a la posición correspondiente en la otra secuencia de referencia, o en una secuencia de Fc nativa diferente, secuencia variante de Fc u otra secuencia de dominio Fc modificada, en una alineación de las dos (es decir, comparando la secuencia de referencia mencionada y la segunda secuencia de dominio Fc de interés), por ejemplo, la posición 2 en SEQ ID NO:599 corresponde a la posición 1 en SEQ ID NO:600, etc.

El término "variante de Fc" se refiere a una molécula o secuencia que se modifica con respecto a un Fc nativo pero que todavía comprende un sitio de unión para el receptor de salvamento, FcRn. Las solicitudes internacionales WO 97/34631 (publicada el 25 de septiembre de 1997) y WO 96/32478 describen variantes de Fc a modo de ejemplo, así como la interacción con el receptor de salvamento. Por tanto, el término "variante de Fc" comprende una molécula o secuencia que se humaniza a partir de un Fc nativo no humano. Además, un Fc nativo comprende sitios que pueden eliminarse porque proporcionan características estructurales o actividad biológica que no se requieren para moléculas de la presente invención. Por tanto, el término "variante de Fc" comprende una molécula o secuencia que carece de uno o más sitios o residuos de Fc nativos que afectan o están implicados en (1) formación de enlaces disulfuro, (2) incompatibilidad con una célula huésped seleccionada, (3) heterogeneidad N-terminal tras la expresión en una célula huésped seleccionada, (4) glicosilación, (5) interacción con el complemento, (6) unión a un receptor de Fc distinto de un receptor de salvamento o (7) citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC). Se describen variantes de Fc en detalle adicional a continuación en el presente documento.

El término sitio de conjugación "interno" significa que la conjugación de al menos un resto adicional, o restos, es no terminal, es decir, no a través del sitio α -amino o el sitio α -carboxilo del dominio Fc, aunque también puede haber opcionalmente restos adicionales conjugados de manera terminal en el extremo N-terminal y/o C-terminal del dominio Fc.

El término región de "bucle" o región de "bucle de Fc" se refiere a una secuencia primaria de residuos de aminoácido que conecta dos regiones que comprenden estructura secundaria, tal como una α -hélice o una lámina β , en las direcciones N-terminal y C-terminal inmediatas de una estructura primaria de la región de bucle. Los ejemplos incluyen, pero no se limitan a, regiones de bucle CH2 o CH3. Un experto en la técnica entiende que una región de bucle, aunque no comprende por sí misma estructura secundaria, puede influir en o contribuir a la estructura secundaria o de orden superior de la proteína.

El término "multímero" tal como se aplica a dominios Fc o moléculas que comprenden dominios Fc se refiere a moléculas que tienen dos o más cadenas polipeptídicas de dominios Fc asociadas covalentemente, no covalentemente o mediante interacciones tanto covalentes como no covalentes. Las moléculas de IgG forman normalmente dímeros; IgM, pentámeros; IgD, dímeros; e IgA, monómeros, dímeros, trímeros o tetrámeros. Pueden formarse multímeros explotando la secuencia y actividad resultante de la fuente de Ig nativa del Fc o derivatizando (tal como se define a continuación) un Fc nativo de este tipo.

El término "dímero" tal como se aplica a dominios Fc o moléculas que comprenden dominios Fc se refiere a moléculas que tienen dos cadenas polipeptídicas asociadas covalentemente o no covalentemente. Dímeros a modo de ejemplo dentro del alcance de esta invención son tal como se muestra en la patente estadounidense n.º 6.660.843, figura 2. Los "dímeros" incluyen homodímeros y heterodímeros.

Los términos "derivatización" y "derivado" o "derivatizado" comprenden procedimientos y compuestos resultantes respectivamente en los que (1) el compuesto tiene una parte cíclica; por ejemplo, reticulación entre residuos de cisteinilo dentro del compuesto; (2) el compuesto está reticulado o tiene un sitio de reticulación; por ejemplo, el compuesto tiene un residuo de cisteinilo y por tanto forma dímeros reticulados en cultivo o *in vivo*; (3) uno o más enlaces peptídicos se reemplazan por un enlace no peptídico; (4) el extremo N-terminal se reemplaza por $-NRR^1$, $NRC(O)R^1$, $-NRC(O)OR^1$, $-NRS(O)_2R^1$, $-NHC(O)NHR$, un grupo succinimida o benciloxicarbonil-NH- sustituido o no sustituido, en los que R y R^1 y los sustituyentes de anillo son tal como se definen a continuación en el presente documento; (5) el extremo C-terminal se reemplaza por $-C(O)R^2$ o $-NR^3R^4$ en los que R^2 , R^3 y R^4 son tal como se definen a continuación en el presente documento; y (6) compuestos en los que se modifican restos de aminoácido individuales a través de tratamiento con agentes que pueden reaccionar con cadenas laterales seleccionadas o residuos terminales. Se describen adicionalmente derivados a continuación en el presente documento.

El término “resto que prolonga la semivida” se refiere a un resto, dominio o “vehículo” farmacéuticamente aceptable unido covalentemente o conjugado con el dominio F_c y/o un resto farmacéuticamente activo, que impide o mitiga *in vivo* la degradación proteolítica u otra modificación química del resto farmacéuticamente activo que disminuye la actividad, aumenta la semivida u otras propiedades farmacocinéticas tales como pero sin limitarse a aumentar la tasa de absorción, reduce la toxicidad, mejora la solubilidad, aumenta la actividad biológica y/o la selectividad de diana del resto farmacéuticamente activo con respecto a una diana de interés, aumenta la capacidad de fabricación y/o reduce la inmunogenicidad del resto farmacéuticamente activo (por ejemplo, un péptido o resto no peptídico), en comparación con una forma no conjugada del resto farmacéuticamente activo. El polietilenglicol (PEG) es un ejemplo de un resto útil que prolonga la semivida. Otros ejemplos de restos que prolonga la semivida, según la invención, incluyen un copolímero de etilenglicol, un copolímero de propilenglicol, una carboximetilcelulosa, una polivinilpirrolidona, un poli-1,3-dioxolano, un poli-1,3,6-trioxano, un copolímero de etileno/anhídrido maleico, un poliaminoácido (por ejemplo, polilisina), una dextrano-n-vinilpirrolidona, una poli-n-vinilpirrolidona, un homopolímero de propilenglicol, un polímero de óxido de propileno, un polímero de óxido de etileno, un poliol polioxietilado, un poli(alcohol vinílico), una cadena glicosilada lineal o ramificada, un poliactal, un ácido graso de cadena larga, un grupo alifático hidrófobo de cadena larga, un dominio F_c de inmunoglobulina (véase, por ejemplo, Feige *et al.*, Modified peptides as therapeutic agents, patente estadounidense n.º 6.660.843), una albúmina (por ejemplo, albúmina sérica humana; véase, por ejemplo, Rosen *et al.*, Albumin fusion proteins, patente estadounidense n.º 6.926.898 y documento US 2005/0054051; Bridon *et al.*, Protection of endogenous therapeutic peptides from peptidase activity through conjugation to blood components, documento US 6.887.470), una transtiretina (TTR; véase, por ejemplo, Walker *et al.*, Use of transthyretin peptide/protein fusions to increase the serum half-life of pharmacologically active peptides/proteins, documento US 2003/0195154 A1; 2003/0191056 A1) o una globulina de unión a tiroxina (TBG).

Otras realizaciones del resto útil que prolonga la semivida, según la invención, incluyen ligandos peptídicos o ligandos de molécula pequeña (orgánica no peptídica) que tienen afinidad de unión por una proteína sérica de semivida larga en condiciones fisiológicas de temperatura, pH y fuerza iónica. Los ejemplos incluyen un péptido o ligando de molécula pequeña de unión a albúmina, un péptido o ligando de molécula pequeña de unión a transtiretina, un péptido o ligando de molécula pequeña de unión a globulina de unión a tiroxina, un péptido o ligando de molécula pequeña de unión a anticuerpo, u otro péptido o molécula pequeña que tiene afinidad por una proteína sérica de semivida larga. (Véase, por ejemplo, Blaney *et al.*, Method and compositions for increasing the serum half-life of pharmacologically active agents by binding to transthyretin-selective ligands, patente estadounidense n.º 5.714.142; Sato *et al.*, Serum albumin binding moieties, documento US 2003/0069395 A1; Jones *et al.*, Pharmaceutical active conjugates, patente estadounidense n.º 6.342.225). Una “proteína sérica de semivida larga” es una de los cientos de diferentes proteínas disueltas en plasma sanguíneo de mamíferos, incluyendo las denominadas “proteínas portadoras” (tal como albúmina, transferrina y haptoglobina), fibrinógeno y otros factores de coagulación sanguínea, componentes del complemento, inmunoglobulinas, inhibidores enzimáticos, precursores de sustancias tales como angiotensina y bradisinina y muchos otros tipos de proteínas. La invención abarca el uso de cualquier especie individual de resto que prolonga la semivida farmacéuticamente aceptable, tal como, pero sin limitarse a, los descritos en el presente documento, o el uso de una combinación de dos o más restos diferentes que prolongan la semivida.

El término “polipéptido” se refiere a moléculas de más de 40 aminoácidos, ya existan en la naturaleza o no, siempre que tales moléculas no estén unidas a la membrana. Los polipéptidos a modo de ejemplo incluyen interleucina (IL)-1ra, leptina, receptores tipo 1 y tipo 2 de factor de necrosis tumoral (TNF) solubles (sTNF-R1, sTNF-R2), factor de crecimiento de queratinocitos (KGF), eritropoyetina (EPO), trombopoyetina (TPO), factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF), darbepoyetina, factor neurotrófico derivado de la línea de células gliales (GDNF), fragmentos Fab y similares. “Polipéptido” y “proteína” se usan de manera intercambiable en el presente documento.

El término “péptido” se refiere a moléculas de 2 a 40 residuos de aminoácido de longitud, prefiriéndose moléculas de 3 a 40 residuos de aminoácido o de 6 a 40 residuos de aminoácido de longitud. Pueden generarse aleatoriamente péptidos a modo de ejemplo mediante cualquiera de los métodos citados anteriormente, portados en una biblioteca de péptidos (por ejemplo, una biblioteca de presentación en fago), o derivarse mediante digestión de proteínas. Los “péptidos” incluyen péptidos cíclicos.

Al describir adicionalmente péptidos o polipéptidos en el presente documento, se aplica frecuentemente un sistema de abreviatura de una letra para designar las identidades de los veinte residuos de aminoácido “canónicos” generalmente incorporados en péptidos y proteínas que se producen de manera natural (tabla 1A). Tales abreviaturas de una letra son completamente intercambiables en significado por las abreviaturas de tres letras, o los nombres de aminoácidos no abreviados. Dentro del sistema de abreviatura de una letra usado en el presente documento, una letra mayúscula indica un L-aminoácido, y una letra en minúscula indica un D-aminoácido, a menos que se indique lo contrario en el presente documento. Por ejemplo, la abreviatura “R” designa L-arginina y la abreviatura “r” designa D-arginina.

Tabla 1A. Abreviaturas de una letra para los aminoácidos canónicos. Las abreviaturas de tres letras están entre paréntesis.

Alanina (Ala)	A
Glutamina (Gln)	Q
Leucina (Leu)	L
Serina (Ser)	S
Arginina (Arg)	R
Ácido glutámico (Glu)	E
Lisina (Lys)	K
Treonina (Thr)	T
Asparagina (Asn)	N
Glicina (Gly)	G
Metionina (Met)	M
Triptófano (Trp)	W
Ácido aspártico (Asp)	D
Histidina (His)	H
Fenilalanina (Phe)	F
Tirosina (Tyr)	Y
Cisteína (Cys)	C
Isoleucina (Ile)	I
Prolina (Pro)	P
Valina (Val)	V

5 Una sustitución de aminoácido en una secuencia de aminoácidos se designa normalmente en el presente documento con una abreviatura de una letra para el residuo de aminoácido en una posición particular, seguido por la posición de aminoácido numérica en relación con la secuencia de péptido o polipéptido nativa de interés, a la que entonces le sigue el símbolo de una letra para el residuo de aminoácido introducido por sustitución. Por ejemplo, "T30D" simboliza una sustitución de un residuo de treonina por un residuo de aspartato en la posición de aminoácido 30, en relación con una secuencia de péptido o polipéptido nativa hipotética. A modo de ejemplo adicional, "R18hR" o "R18Cit" indica una sustitución de un residuo de arginina por un residuo de homoarginina o citrulina, respectivamente, en la posición de aminoácido 18, en relación con el péptido o polipéptido nativo hipotético. Una posición de aminoácido dentro de la secuencia de aminoácidos de cualquier péptido o polipéptido particular (o análogo de péptido) descrito en el presente documento puede diferir de su posición en relación con la secuencia nativa, es decir, tal como se determina en una alineación del extremo N-terminal o C-terminal de la secuencia de aminoácidos del péptido con el extremo N-terminal o C-terminal, según sea apropiado, de la secuencia de péptido o polipéptido nativa.

El término "residuo de aminoácido no canónico" se refiere a residuos de aminoácido en forma D o L que no están entre los 20 aminoácidos canónicos incorporados generalmente en proteínas que se producen de manera natural. Los aminoácidos no canónicos incluyen residuos de aminoácido poco comunes de manera natural (en péptidos o proteínas) o residuos de aminoácido no naturales. Los ejemplos de aminoácidos no canónicos incluyen, sin limitación, β -aminoácidos, homoaminoácidos, aminoácidos cíclicos, aminoácidos α,α -disustituidos, N-alquilaminoácidos y aminoácidos con cadenas laterales derivatizadas. Otros ejemplos incluyen (en forma L o forma D): citrulina (Cit), homocitrulina (hCit), N-metilcitrulina (NMeCit), N-metilhomocitrulina (NMeHoCit), ornitina (Orn u O), N-metilornitina (NMeOrn), sarcosina (Sar), homolisina (hK o Hlys), homoarginina (hR o hArg), homoglutamina (hQ), N-metilarginina (NMeR), N-metil-leucina (NMeL), N-metilhomolisina (NMeHoK), N-metilglutamina (NMeQ), norleucina (Nle), norvalina (Nva), 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina (Tic), nitrofenilalanina (nitrophe), aminofenilalanina (aminophe), bencilfenilalanina (benzylphe), ácido γ -carboxiglutámico (γ -carboxyglu), hidroxiprolina (hidroxypro), p-carboxilfenilalanina (Cpa), ácido α -aminoadípico (Aad), acetilarginina (acetylarg), ácido α,β -diaminopropiónico (Dpr), ácido α,γ -diaminobutírico (Dab), ácido diaminopropiónico (Dap), β -(1-naftil)-alanina (1Nal), β -(2-naftil)-alanina (2Na1), ciclohexilalanina (Cha), 4-metil-fenilalanina (MePhe), β,β -difenil-alanina (BiPhA), ácido aminobutírico (Abu), 4-fenilfenilalanina (4Bip), ácido α -amino-isobutírico (Aib), beta-alanina, ácido beta-aminopropiónico, ácido piperidínico, ácido aminocaproico, ácido aminoheptanoico, ácido aminopimélico, desmosina, ácido diaminopimélico, N-etilglicina, N-etilasparagina, hidroxilisina, alo-hidroxilisina, isodesmosina, alo-isoleucina, N-metilglicina, N-metilisoleucina, N-metilvalina, 4-hidroxiprolina, γ -carboxiglutamato, ϵ -N,N,N-trimetil-lisina, ϵ -N-acetil-lisina, O-fosfo-serina, N-acetilserina, N-formilmetionina, 3-metilhistidina, 5-hidroxilisina, ω -metilarginina y otros aminoácidos similares, y formas derivatizadas de cualquiera de éstos tal como se describen en el presente documento.

Se han publicado la nomenclatura y el simbolismo para aminoácidos y péptidos por la Comisión Mixta de Nomenclatura Bioquímica ("*Joint Commission on Biochemical Nomenclature*") (JCBN) de la UPAC-IUB en los siguientes documentos: *Biochem. J.*, 1984, 219, 345-373; *Eur. J. Biochem.*, 1984, 138, 9-37; 1985, 152, 1; 1993, 213, 2; *Internat. J. Pept. Prot. Res.*, 1984, 24, tras la pág. 84; *J. Biol. Chem.*, 1985, 260, 14-42; *Pure Appl. Chem.*, 1984, 56, 595-624; *Amino Acids and Peptides*, 1985, 16, 387-410; *Biochemical Nomenclature and Related Documents*, 2ª edición, Portland Press, 1992, páginas 39-69. El término "proteasa" es sinónimo de "peptidasa". Las

- proteasas comprenden dos grupos de enzimas: las endopeptidasas que escinden enlaces peptídicos en puntos dentro de la proteína, y las exopeptidasas, que eliminan uno o más aminoácidos de o bien el extremo N-terminal o bien el extremo C-terminal respectivamente. El término “proteínasa” también se usa como sinónimo de endopeptidasa. Las cuatro clases mecánicas de proteinasas son: serina proteinasas, cisteína proteinasas, proteinasas aspárticas y metaloproteinazas. Además de estas cuatro clases mecánicas, hay una sección de la nomenclatura de enzimas que está destinada a proteasas de mecanismo catalítico no identificado. Esto indica que el mecanismo catalítico no se ha identificado.
- La nomenclatura de subsitios de escisión se adopta comúnmente de un esquema creado por Schechter y Berger (Schechter I. y Berger A., On the size of the active site in proteases. I. Papain, *Biochemical and Biophysical Research Communication*, 27: 157 (1967); Schechter I. y Berger A., On the active site of proteases. 3. Mapping the active site of papain; specific peptide inhibitors of papain, *Biochemical and Biophysical Research Communication*, 32:898 (1968)). Según este modelo, los residuos de aminoácido en un sustrato que se somete a escisión se designan P1, P2, P3, P4, etc. en la dirección N-terminal dirección a partir del enlace escindido. Asimismo, los residuos en la dirección C-terminal se designan P1', P2', P3', P4', etc.
- El experto en la técnica es consciente de una variedad de herramientas para identificar sitios de escisión de proteasas o de unión a proteasas de interés. Por ejemplo, la herramienta de software PeptideCutter está disponible a través del servidor de proteómica ExPASy (Expert Protein Analysis System) del Instituto Suizo de Bioinformática (SIB; www.expasy.org/tools/peptidecutter). PeptideCutter realiza búsquedas en una secuencia de proteína de las bases de datos SWISS-PROT y/o TrEMBL o una secuencia de proteína introducida por el usuario para detectar sitios de escisión de proteasas. Pueden usarse productos químicos y proteasas individuales, una selección o la lista completa de proteasas y productos químicos. Están disponibles diferentes formas de salida de los resultados: tablas de sitios de escisión agrupados o bien alfabéticamente según los nombres de las enzimas o bien secuencialmente según el número de aminoácido. Una tercera opción para la salida es un mapa de sitios de escisión. La secuencia y los sitios de escisión mapeados sobre la misma se agrupan en bloques, cuyo tamaño puede elegirse por el usuario. También se conocen otras herramientas para determinar sitios de escisión de proteasas. (Por ejemplo, Turk, B. *et al.*, Determination of protease cleavage site motifs using mixture-based oriented peptide libraries, *Nature Biotechnology*, 19:661-667 (2001); Barrett A. *et al.*, *Handbook of proteolytic enzymes*, Academic Press (1998)).
- Las serina proteinasas incluyen la familia de quimiotripsina, que incluye enzimas proteasas de mamífero tales como quimiotripsina, tripsina o elastasa o calicreína. Las serina proteinasas presentan diferentes especificidades de sustrato, que están relacionadas con sustituciones de aminoácidos en los diversos subsitios de la enzima que interaccionan con los residuos del sustrato. Algunas enzimas tienen un sitio de interacción prolongada con el sustrato mientras que otras tienen una especificidad restringida al residuo del sustrato P1.
- La tripsina escinde preferentemente en R o K en posición P1. Un estudio estadístico llevado a cabo por Keil (1992) describió las influencias negativas de residuos que rodean los enlaces Arg- y Lys- (es decir, las posiciones P2 y P1', respectivamente) durante la escisión por tripsina. (Keil, B., *Specificity of proteolysis*, Springer-Verlag Berlín-Heidelberg-Nueva York, 335 (1992)). Un residuo de prolina en posición P1' ejerce normalmente una fuerte influencia negativa sobre la escisión por tripsina. De manera similar, el posicionamiento de R y K en P1' da como resultado una inhibición, así como residuos cargados negativamente en las posiciones P2 y P1'.
- La quimiotripsina escinde preferentemente en una W, Y o F en posición P1 (alta especificidad) y en un menor grado en un residuo de L, M o H en posición P1. (Keil, 1992). Las excepciones a estas normas son las siguientes: cuando se encuentra W en posición P1, la escisión se bloquea cuando M o P se encuentran en posición P1' al mismo tiempo. Además, un residuo de prolina en posición P1' bloquea casi completamente la escisión independientemente de los aminoácidos encontrados en posición P1. Cuando se encuentra un residuo M en posición P1, la escisión se bloquea por la presencia de un residuo Y en posición P1'. Finalmente, cuando se ubica H en posición P1, la presencia de un residuo de D, M o W también bloquea la escisión.
- La metaloendopeptidasa de membrana (NEP; endopeptidasa neutra, proteinasa neutra de borde en cepillo del riñón, encefalinasa, EC 3.4.24.11) escinde péptidos en el lado del amino de residuos de aminoácido hidrófobos. (Connelly, JC *et al.*, Neutral Endopeptidase 24.11 in Human Neutrophils: Cleavage of Chemotactic Peptide, *PNAS*, 82(24): 8737-8741 (1985)).
- La trombina escinde preferentemente en un residuo R en posición P1. (Keil, 1992). El sustrato natural de la trombina es el fibrinógeno. Sitios de escisión óptimos son cuando un residuo R está en posición P1 y Gly está en posición P2 y posición P1'. Asimismo, cuando se encuentran residuos de aminoácido hidrófobos en posición P4 y posición P3, un residuo de prolina en posición P2, un residuo R en posición P1 y residuos de aminoácido no ácidos en posición P1' y posición P2'. Un residuo muy importante para su sustrato natural, fibrinógeno, es un residuo D en P10.
- Las caspasas son una familia de cisteína proteasas que llevan un sitio activo con una secuencia de aminoácidos conservada y que escinden péptidos específicamente tras residuos D. (Earnshaw WC *et al.*, Mammalian caspases: Structure, activation, substrates, and functions during apoptosis, *Annual Review of Biochemistry*, 68:383-424 (1999)).
- La Arg-C proteinasa escinde preferentemente en un residuo R en posición P1. El comportamiento de escisión

parece verse afectado sólo moderadamente por residuos en posición P1'. (Keil, 1992). La Asp-N endopeptidasa escinde específicamente enlaces con un residuo D en posición P1'. (Keil, 1992).

Lo anterior es meramente a modo de ejemplo y de ningún modo un tratamiento exhaustivo del conocimiento disponible para el experto en la técnica referente a sitios de escisión de y/o unión a proteasas que el experto en la técnica pueda estar interesado en eliminar al poner en práctica la invención.

El término "aleatorizado" tal como se usa para referirse a secuencias de péptido se refiere a secuencias al azar (por ejemplo, seleccionadas mediante métodos de presentación en fago) y secuencias en las que uno o más residuos de una molécula que se produce de manera natural es reemplazada por un residuo de aminoácido que no aparece en esa posición en la molécula que se produce de manera natural. Los métodos a modo de ejemplo para identificar secuencias de péptido incluyen presentación en fago, presentación en *E. coli*, presentación en ribosomas, selección a base de levaduras, selección de ARN-péptido, selección química, diseño racional, análisis estructural de proteínas y similares.

Un peptidomimético puede incluir una cadena similar a péptido pequeño que contiene uno o más isoésteres de enlaces amida y puede contener aminoácidos tanto naturales como no naturales. Tales peptidomiméticos similares a péptidos surgen normalmente de la modificación de un polipéptido o péptido existente con el fin de alterar las propiedades de la molécula. Por ejemplo, pueden surgir de modificaciones para cambiar la actividad biológica o la estabilidad de la molécula. Estas modificaciones implican cambios en el péptido que no se producirán de manera natural (tal como incorporación de aminoácidos no naturales). Alternativamente, los peptidomiméticos incluyen moléculas pequeñas no peptídicas que tienen actividad farmacológica o bioquímica y/o estructura química similares a péptidos, tales como, pero sin limitarse a, estructura estérica. Un ejemplo de un compuesto peptidomimético de este tipo es BIBN 4096 BS.

El término "farmacológicamente activo" significa que se determina que una sustancia así descrita tiene actividad que afecta a un parámetro médico (por ejemplo, tensión arterial, recuento de células sanguíneas, nivel de colesterol) o estado patológico (por ejemplo, cáncer, trastornos autoinmunitarios, trastornos neurológicos, dolor crónico). Por tanto, péptidos o polipéptidos farmacológicamente activos comprenden péptidos agonistas o miméticos y antagonistas tal como se definen a continuación.

Los términos "péptido mimético de" y "péptido agonista de" se refieren, respectivamente, a un péptido o polipéptido que tiene actividad biológica comparable a una proteína (por ejemplo, EPO, TPO, G-CSF) de interés o a un péptido o polipéptido que interacciona como agonista con una proteína particular de interés. Estos términos incluyen además péptidos o polipéptidos que imitan indirectamente la actividad de una proteína de interés, tal como potenciando los efectos del ligando natural de la proteína de interés; véanse, por ejemplo, los péptidos miméticos de EPO enumerados en la tabla 5 del presente documento y en la patente estadounidense n.º 6.660.843. Por tanto, el término "péptido mimético de EPO" comprende cualquier péptido o polipéptido que pueda identificarse o derivarse tal como se describe en Wrighton *et al.* (1996), Science 273: 458-63, Naranda *et al.* (1999), Proc. Natl. Acad. Sci. USA 96: 7569-74, o cualquier otra referencia en la tabla 5 que se identifica como que tiene contenido mimético de EPO. Los expertos habituales en la técnica aprecian que cada una de estas referencias permite seleccionar péptidos o polipéptidos diferentes de los dados a conocer realmente en las mismas siguiendo los procedimientos dados a conocer con diferentes bibliotecas de péptidos.

El término "péptido antagonista de" o "péptido inhibidor" se refiere a un péptido que bloquea o interfiere de algún modo con la actividad biológica de la proteína de interés asociada, o tiene actividad biológica comparable a un inhibidor o antagonista conocido de la proteína de interés asociada. Por tanto, el término "péptido antagonista de BAFF" comprende péptidos que pueden identificarse o derivarse tal como se describe en la solicitud de patente estadounidense n.º 2003/0195156 A1, y los péptidos que aparecen en la tabla 10. Los expertos habituales en la técnica aprecian que la referencia anterior permite seleccionar péptidos diferentes de los dados a conocer realmente en la misma siguiendo los procedimientos dados a conocer con diferentes bibliotecas de péptidos.

En la composición de la invención de la materia de la composición, el dominio Fc monomérico o multimérico tiene al menos un resto funcional adicional que se une covalentemente (o se conjuga) con uno o más sitios de conjugación "específicamente seleccionado(s)" en el dominio Fc. El término "específicamente seleccionado" con respecto a sitio de conjugación significa que el derivado o producto principal de la química de conjugación (o reacción química) empleada es a través de la cadena lateral de un residuo de aminoácido en el sitio de conjugación específicamente seleccionado en el dominio Fc. También pueden resultar productos de reacción minoritarios de la reacción de conjugación, pero éstos pueden eliminarse por purificación, si se desea o es apropiado.

Los "péptidos de toxina" incluyen péptidos y polipéptidos que tienen la misma secuencia de aminoácidos de un péptido o polipéptido farmacológicamente activo que se produce de manera natural que puede aislarse de un veneno, y también incluyen análogos de péptidos modificados de tales moléculas que se producen de manera natural. (Véase, por ejemplo, Kalman *et al.*, ShK-Dap22, a potent Kv1.3-specific immunosuppressive polypeptide, J. Biol. Chem. 273(49):32697-707 (1998); Kern *et al.*, patente estadounidense n.º 6.077.680; Mouhat *et al.*, OsK1 derivatives, documento WO 2006/002850 A2; Chandy *et al.*, Analogs of SHK toxin and their uses in selective inhibition of Kv1.3 potassium channels, documento WO 2006/042151). Serpientes, escorpiones, arañas, abejas,

caracoles y anémonas marinas son unos cuantos ejemplos de organismos que producen veneno que puede servir como fuente rica de péptidos de toxina bioactivos pequeños o “toxinas” que seleccionan como diana de manera potente y selectiva canales iónicos y receptores.

5 Los péptidos de toxina tienen habitualmente entre aproximadamente 20 y aproximadamente 80 aminoácidos de longitud, contienen 2-5 enlaces disulfuro y forman una estructura muy compacta. Se han aislado y caracterizado péptidos de toxina (por ejemplo, del veneno de escorpiones, anémonas marinas y caracoles cónicos) para determinar su impacto sobre canales iónicos. Tales péptidos parecen haber evolucionado a partir de un número relativamente pequeño de entramados estructurales que se adecúan particularmente bien para abordar los problemas críticos de potencia y estabilidad. La mayoría de los péptidos de toxina de escorpiones y *Conus*, por ejemplo, contienen 10-40 aminoácidos y hasta cinco enlaces disulfuro, formando una estructura extremadamente compacta y constreñida (microproteínas) a menudo resistente a la proteólisis. Los péptidos de conotoxina y toxina de escorpión pueden dividirse en varias superfamilias basándose en sus conexiones por enlaces disulfuro y pliegues peptídicos. La estructura en disolución de muchas de éstas se ha determinado mediante espectroscopía de RMN, ilustrando su estructura compacta y verificando la conservación de su pliegue de familia. (Por ejemplo, Tudor *et al.*, Ionisation behaviour and solution properties of the potassium-channel blocker ShK toxin, *Eur. J. Biochem.* 251(1-2):133-41(1998); Pennington *et al.*, Role of disulfide bonds in the structure and potassium channel blocking activity of ShK toxin, *Biochem.* 38(44): 14549-58 (1999); Jaravine *et al.*, Three-dimensional structure of toxin OSK1 from *Orthochirus scrobiculosus* scorpion venom, *Biochem.* 36(6):1223-32 (1997); del Rio-Portillo *et al.*; NMR solution structure of Cn12, a novel peptide from the Mexican scorpion *Centruroides noxius* with a typical beta-toxin sequence but with alpha-like physiological activity, *Eur. J. Biochem.* 271(12): 2504-16 (2004); Prochnicka-Chalufour *et al.*, Solution structure of discrepin, a new K⁺-channel blocking peptide from the alpha-KTx15 subfamily, *Biochem.* 45(6):1795-1804 (2006)). Los ejemplos de péptidos de toxina farmacológicamente activos para los que la práctica de la presente invención puede ser útil incluyen, pero no se limitan a ShK, OSK1, caribdotoxina (ChTx), kaliotoxina 1 (KTX1) o maurotoxina, o análogos de péptidos de toxina de cualquiera de éstos, modificados a partir de las secuencias nativas en uno o más residuos de aminoácido. Otros ejemplos se conocen en la técnica, o pueden encontrarse en la solicitud de patente estadounidense n.º 11/406.454 (titulada: Agentes terapéuticos de péptidos de toxina), presentada el 17 de abril de 2006.

30 El término “péptido mimético de TPO” comprende péptidos que pueden identificarse o derivarse tal como se describe en Cwirla *et al.* (1997), *Science* 276: 1696-9, patentes estadounidenses n.ºs 5.869.451 y 5.932.946; la solicitud de patente estadounidense n.º 2003/0176352, publicada el 18 de septiembre de 2003; el documento WO 03/031589, publicado el 17 de abril de 2003; el documento WO 00/24770, publicado el 4 de mayo de 2000; y cualquier péptido que aparezca en la tabla 6. Los expertos habituales en la técnica aprecian que cada una de estas referencias permite seleccionar péptidos diferentes de los dados a conocer realmente en las mismas siguiendo los procedimientos dados a conocer con diferentes bibliotecas de péptidos.

35 El término “péptido de unión a ang-2” comprende péptidos que pueden identificarse o derivarse tal como se describe en la solicitud de patente estadounidense n.º 2003/0229023, publicada el 11 de diciembre de 2003; el documento WO 03/057134, publicado el 7/17/03; el documento U.S. 2003/0236193, publicado el 25 de diciembre de 2003; y cualquier péptido que aparezca en la tabla 7. Los expertos habituales en la técnica aprecian que cada una de estas referencias permite seleccionar péptidos diferentes de los dados a conocer realmente en las mismas siguiendo los procedimientos dados a conocer con diferentes bibliotecas de péptidos.

40 El término “péptido de unión a NGF” comprende péptidos que pueden identificarse o derivarse tal como se describe en el documento WO 04/026329, publicado el 1 de abril de 2004 y cualquier péptido identificado en la tabla 8. Los expertos habituales en la técnica aprecian que esta referencia permite seleccionar péptidos diferentes de los dados a conocer realmente en la misma siguiendo los procedimientos dados a conocer con diferentes bibliotecas de péptidos.

45 El término “péptido de unión a miostatina” comprende péptidos que pueden identificarse o derivarse tal como se describe en el documento U.S. con número de serie 10/742.379, presentado el 19 de diciembre de 2003 y péptidos que aparecen en la tabla 9. Los expertos habituales en la técnica aprecian que cada una de estas referencias permite seleccionar péptidos diferentes de los dados a conocer realmente en las mismas siguiendo los procedimientos dados a conocer con diferentes bibliotecas de péptidos.

50 “Péptido PEGilado” quiere decir un péptido o proteína que tiene un resto de polietilenglicol (PEG) unido covalentemente a un residuo de aminoácido del propio péptido o a un ligador peptídico o no peptídico (incluyendo pero sin limitarse a ligadores aromáticos) que se une covalentemente a un residuo del péptido.

55 Por “polietilenglicol” o “PEG” quiere decirse un compuesto de polialquilenglicol o un derivado del mismo, con o sin agentes de acoplamiento o derivatización con restos de activación o de acoplamiento (por ejemplo, con aldehído, hidroxisuccinimidilo, hidrazida, tiol, triflato, tresilato, azirdina, oxirano, disulfuro de ortopiridilo, vinilsulfona, yodoacetamida o un resto de maleimida). Según la presente invención, el PEG útil incluye PEG de cadena recta, sustancialmente lineal, PEG de cadena recta, PEG ramificado o PEG dendrítico. (Véase, por ejemplo, Merrill, patente estadounidense n.º 5.171.264; Harris *et al.*, Multiarmed, monofunctional, polymer for coupling to molecules and surfaces, patente estadounidense n.º 5.932.462; Shen, N-maleimidyl polymer derivatives, patente

60

estadounidense n.º 6.602.498).

Adicionalmente, se abarcan también en el presente documento sales fisiológicamente aceptables de los compuestos de esta invención. Por "sales fisiológicamente aceptables" quiere decirse cualquier sal que se sabe o se descubre posteriormente que son farmacéuticamente aceptables. Algunos ejemplos son: sales de acetato, trifluoroacetato; hidroháluros, tales como clorhidrato y bromhidrato; sulfato; citrato; maleato; tartrato; glicolato; gluconato; succinato; mesilato; besilato; y oxalato.

Metodología general

La presente invención se refiere a un procedimiento para preparar un compuesto farmacológicamente activo que implica seleccionar al menos un sitio de conjugación interno de una secuencia de dominio Fc, siendo dicho sitio de conjugación un residuo de cisteína añadido al dominio Fc mediante sustitución en un sitio de Fc seleccionado del grupo que consiste en Leu139, Gln143, Ser145 y Ser196, en relación con la secuencia de referencia SEQ ID NO: 599, o una combinación de cualquiera de éstos. El sitio de conjugación debe ser propenso a la conjugación de un resto funcional adicional mediante una química de conjugación definida a través de la cadena lateral de un residuo de aminoácido en el sitio de conjugación. Lograr una conjugación a Fc específica de sitio, altamente selectiva, según la presente invención, requiere la consideración de una variedad diversa de criterios de diseño. En primer lugar, debe definirse o predeterminarse la pareja de conjugación, es decir, el resto funcional adicional (o restos) de interés, y una química de acoplamiento o conjugación preferida. Pueden conjugarse o acoplarse restos funcionales tales como, pero sin limitarse a, proteínas, péptidos, polímeros u otros restos orgánicos no peptídicos (por ejemplo, "moléculas pequeñas"), al sitio de conjugación seleccionado a través de una variedad de diferentes químicas de conjugación conocidas en la técnica. Por ejemplo, una pareja de conjugación activada por maleimida que selecciona como diana un tiol de cisteína accesible en el dominio Fc es una realización, pero pueden emplearse numerosas químicas de acoplamiento o conjugación que seleccionan como diana las cadenas laterales de aminoácidos o bien canónicos o bien no canónicos, por ejemplo, no naturales, en la secuencia de dominio Fc, según la presente invención.

Las químicas para la conjugación quimioselectiva con péptidos, polímeros, moléculas pequeñas u otros agentes específicamente derivatizados para modificar por ingeniería genética proteínas que presentan funcionalidad de cadena lateral novedosa y específicamente reactiva incluyen: cicloadiciones dipolares de azida-alkino [3+2] catalizadas por cobre(I), ligación de Staudinger, otros procedimientos de transferencia de acilo (S →N; X→N), oximaciones, formación de enlaces de hidrazona y otras reacciones de química orgánica adecuadas tales como acoplamientos cruzados usando catalizadores de paladio solubles en agua. (Por ejemplo, Bong *et al.*, Chemoselective Pd(0)-catalyzed peptide coupling in water, *Organic Letters* 3(16):2509-11 (2001); Dibowski *et al.*, Bioconjugation of peptides by palladium-catalyzed C-C cross-coupling in water, *Angew. Chem. Int. Ed.* 37(4):476-78 (1998); DeVasher *et al.*, Aqueous-phase, palladium-catalyzed cross-coupling of aryl bromides under mild conditions, using water-soluble, sterically demanding alkylphosphines, *J. Org. Chem.* 69:7919-27 (2004); Shaughnessy *et al.*, *J. Org. Chem.*, 2003, 68, 6767-6774; Prescher, JA y Bertozzi CR, Chemistry in living system, *Nature Chemical Biology* 1(1); 13-21 (2005)). Algunas químicas de conjugación útiles se ilustran en la tabla 1B a continuación.

Tabla 1B. Algunas químicas de conjugación útiles. Citas: 17 = Link *et al.*, Presentation and detection of azide functionality in bacterial cell surface proteins, *J. Am. Chem. Soc.* 126:10598-602 (2004); 19 = Chen *et al.*, Site-specific labeling of cell surface proteins with biophysical probes using biotin ligase, *Nat. Methods* 2:99-104 (2005); 20 = Zhang *et al.*, A new strategy for the site-specific modification of proteins *in vivo*, *Biochemistry* 42:6735-46 (2003); 22 = Mahal *et al.*, Engineering chemical reactivity on cell surfaces through oligosaccharide biosynthesis, *Science* 276:1125-28 (1997); 25 = Kho *et al.*, A tagging-via-substrate technology for detection and proteomics of farnesylated proteins, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101:12479-484 (2004); 26 = Speers *et al.*, Activity-based protein profiling *in vivo* using a copper(I)-catalyzed azide-alkyne [3 + 2] cycloaddition, *J. Am. Chem. Soc.* 125:4686-87 (2003); 29 = Speers *et al.*, Profiling enzyme activities *in vivo* using click chemistry, *methods, Chem. Biol.* 11:535-46 (2004); 30 = Prescher *et al.*, Chemical remodeling of cell surfaces in living animals, *Nature* 430:873-77 (2004); 34 = Agard *et al.*, A strain-promoted [3 + 2] azide-alkyne cycloaddition for covalent modification of biomolecules in living systems, *J. Am. Chem. Soc.* 126:15046-47 (2004).

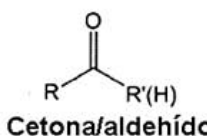
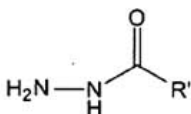
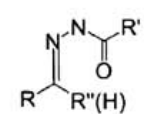
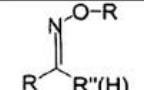
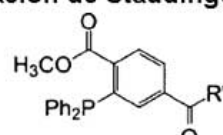
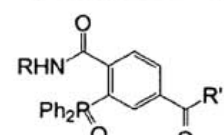
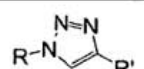

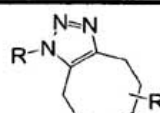
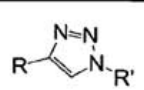
 Cetona/aldehído	 $\text{H}_2\text{N}-\text{NH}-\text{C}(=\text{O})-\text{R}'$	 $\text{R}-\text{C}(=\text{O})-\text{NH}-\text{R}''(\text{H})$	Proteína ^{19, 20}
	$\text{H}_2\text{N}-\text{O}-\text{R}'$	 $\text{R}-\text{C}(=\text{O})-\text{O}-\text{R}''(\text{H})$	Glicano ²²
$\text{R}-\text{N}_3$ Azida	Ligación de Staudinger   $\text{RHN}-\text{C}(=\text{O})-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CH}_2-\text{C}(=\text{O})-\text{R}'$	Proteína ^{17, 25}	
	Química "click" $\equiv\text{R}', \text{Cu}(\text{I}), \text{ligando}$	 $\text{R}-\text{N}=\text{N}-\text{C}(\text{R}')=\text{N}-\text{R}'$	Glicano ^{30, 34}
	Cicloaddición promovida por tensión  $\text{C}_8\text{H}_{13}-\text{R}'$	 $\text{R}-\text{N}=\text{N}-\text{C}_8\text{H}_{13}-\text{R}'$	Lípido ²⁵
$\text{R}-\equiv$ Alquino terminal	Química "click" $\text{N}_3-\text{R}', \text{Cu}(\text{I}), \text{ligando}$	 $\text{R}-\text{N}=\text{N}-\text{C}(\text{R}')=\text{N}-\text{R}'$	Proteína ²⁹

Tabla 1B

5 Tal como se mencionó anteriormente, la conjugación (o unión covalente) al dominio Fc es a través de la cadena lateral de un residuo de aminoácido en el sitio de conjugación, por ejemplo un residuo de cisteinilo. El residuo de aminoácido, por ejemplo, un residuo de cisteinilo, en el sitio de conjugación interno que se selecciona puede ser uno que ocupa la misma posición de residuo de aminoácido en una secuencia de dominio Fc nativo, o el residuo de aminoácido puede introducirse por ingeniería genética en la secuencia de dominio Fc mediante sustitución o inserción. Tales residuos de aminoácido pueden tener estereoquímica o bien L o bien D (excepto para Gly, que no es ni L ni D) y los polipéptidos, péptidos y composiciones descritos en el presente documento pueden comprender una combinación de estereoquímicas. Sin embargo, se prefiere la estereoquímica L. También se describen en el presente documento moléculas inversas en las que la secuencia amino terminal a carboxilo terminal de los aminoácidos está invertida. Por ejemplo, la inversa de una molécula que tiene la secuencia normal $X_1-X_2-X_3$ sería $X_3-X_2-X_1$. También se describen en el presente documento moléculas retroinversas en las que, como anteriormente, la secuencia amino terminal a carboxilo terminal está invertida y residuos que normalmente son enantiómeros "L" están alterados a la forma de estereoisómero "D".

Estereoisómeros (por ejemplo, D-aminoácidos) de los veinte aminoácidos canónicos, y otros aminoácidos no canónicos, descritos en el presente documento, tales como aminoácidos no naturales, también pueden ser componentes adecuados para partes de péptido o polipéptido de determinadas realizaciones de la composición de materia de la invención.

20 Otros ejemplos de residuos de aminoácido no naturales que pueden ser particularmente útiles como sitio de conjugación incluyen: residuos de aminoácido que contienen azido, por ejemplo, azidohomocisteína, p-azido-fenilalanina; residuos de aminoácido que contienen ceto, por ejemplo, p-acetil-fenilalanina; residuos de aminoácido que contienen alquino, por ejemplo, p-etinilfenilalanina, homopropargilglicina, p-(prop-2-ynil)-tirosina; residuos de aminoácido que contienen alqueno, por ejemplo, homoalilglicina; residuos de aminoácido que contienen haluro de arilo, por ejemplo p-yodofenilalanina, p-bromofenilalanina; y residuos de aminoácido que contienen 1,2-aminotiolo.

25 Los residuos de aminoácido no canónicos pueden incorporarse mediante sustitución o inserción de aminoácidos. Pueden incorporarse residuos de aminoácido no canónicos en el péptido mediante síntesis química de péptidos en vez de síntesis en sistemas biológicos, tales como células de expresión recombinante, o alternativamente el experto en la técnica puede emplear técnicas conocidas de modificación por ingeniería genética de proteínas que usan células de expresión recombinante. (Veáanse, por ejemplo, Link *et al.*, Non-canonical amino acids in protein engineering, Current Opinion in Biotechnology, 14(6):603-609 (2003); Schultz *et al.*, In vivo incorporation of unnatural amino acids, patente estadounidense n.º 7.045.337).

La selección de la ubicación del sitio de conjugación en la secuencia de Fc global es otra faceta importante de la selección de un sitio de conjugación interno. Cualquiera de los residuos de aminoácido expuestos en la superficie de Fc o de o bien los subdominios o bien las regiones de bucle CH2 o CH3 de Fc pueden ser sitios de conjugación potencialmente útiles (figura 1) y pueden mutarse a cisteína o algún otro aminoácido reactivo para el acoplamiento selectivo de sitio, si no está ya presente en el sitio de conjugación seleccionado de la secuencia de dominio Fc. Sin embargo, este enfoque no tiene en cuenta posibles constricciones estéricas que pueden perturbar la actividad de la pareja de fusión o limitar la reactividad de la mutación introducida por ingeniería genética. Por ejemplo, una cisteína modificada por ingeniería genética para estar completamente expuesta al disolvente puede oxidarse durante la purificación dejando poco o nada de tiol reactivo para la conjugación. Además, la mutación introducida para la conjugación, ya sea cisteína o cualquier otro aminoácido, no debe desestabilizar la estructura de Fc o interferir con los rendimientos de recuperación o expresión del análogo de Fc. Finalmente, en el caso de un dominio de Fc intacto, los sitios de conjugación seleccionados deben ser alostéricos con respecto a la superficie de contacto del dímero de Fc, si está presente. Además, algunas aplicaciones terapéuticas pueden beneficiarse adicionalmente al mantener sitios de conjugación distales con respecto a la superficie de contacto del receptor de Fc (FcRn).

Se describe en el presente documento una investigación topográfica detallada de la estructura de la superficie de Fc de inmunoglobulina, que identifica aminoácidos expuestos al disolvente que representan sitios de conjugación potencialmente adecuados para el acoplamiento químico de proteínas, péptidos, polímeros u otras moléculas pequeñas (figura 1). En este análisis, no todos los residuos hidrófilos expuestos al disolvente, se consideraron adecuados para la conjugación. De hecho, sólo se seleccionaron 36 residuos de 115 posibles basándose en su yuxtaposición con las superficies de contacto de dímero y de unión a FcRn así como otras constricciones estéricas localizadas. La lista de posibles sitios de conjugación se refinó adicionalmente usando las estructuras de cristal de dominio Fc disponibles, sus receptores y numerosas alineaciones de secuencias de Fc para mapear todas las supuestas regiones de bucle estructural de Fc (figura 2, en negrita). Se identificaron residuos específicos que eran los más adecuados para la sustitución dentro de estas regiones de bucle mediante modelado de homología y accesibilidad del disolvente (figura 2, subrayado). Finalmente, se clasificó cada uno de estos posibles sitios de conjugación basándose en su yuxtaposición relativa con respecto a la superficie de contacto de dímero y FcRn, sus homologías entre especies y de isotipo y la implicación y proximidad de los sitios en elementos clave de la estructura secundaria de Fc (tabla 2). Este enfoque que usa modelado de homología basado en estructura para identificar regiones de bucle de Fc y para pronosticar sitios de mutación tolerantes a inserción se ha validado previamente usando inserciones de péptidos terapéuticos tal como se describe en la solicitud de patente de Amgen, solicitud provisional estadounidense n.º 60/612.680 presentada el 24 de septiembre de 2004. (Véase el documento WO 2006/036834). Sitios de mutación descritos en ese trabajo son Thr140, Asn78 y Glu50 (figura 2; las posiciones de residuos de aminoácido citadas se refieren a la secuencia de referencia SEQ ID NO:599).

Para comparar los sitios de conjugación preferidos seleccionados de los residuos de superficie expuestos al disolvente resaltados en la figura 1, con las supuestas regiones de bucle en negrita y los sitios de conjugación preferidos subrayados dentro de esos bucles (figura 2), se alinearon las dos secuencias y se mapearon en el dominio Fc de IgG1 humana tal como se muestra en la figura 3. En este caso surge un acuerdo muy constante entre el modelo de exposición en la superficie y el modelo de bucle para seleccionar posibles sitios de conjugación. Claramente, estos ejemplos demuestran que a través de un análisis estructural detallado y una comparación de dominios Fc de inmunoglobulina, es posible identificar un número experimentalmente manejable de posibles sitios de conjugación que no son fácilmente obvios a partir de mapas hidrofóbicos sencillos de la secuencia.

Un subconjunto de mutaciones preferidas para el acoplamiento aborda específicamente el uso de análogos de cisteína en los que la funcionalidad tiol libre debe conservarse para lograr una conjugación eficaz. Esta estrategia supone que las mutaciones de cisteína deben introducirse por ingeniería genética en elementos comparativamente rígidos de la estructura secundaria, en contraposición a regiones de bucle, y el tiol de la cisteína debe yuxtaponerse dentro de un bolsillo en la superficie de la proteína, proporcionando una exposición mínima al disolvente, para ayudar a protegerla de la oxidación. Esta estrategia se ha demostrado eficazmente en la patente estadounidense n.º 6.420.339. Con este enfoque, los residuos más preferidos para la mutación de cisteína son Ser196, Gln143, Leu139 y Ser145 de la secuencia de Fc humana (figura 4), siendo las posiciones mencionadas en relación con la secuencia de referencia SEQ ID NO: 599.

Los inventores prevén además como parte de esta invención que ninguno de estos posibles sitios de conjugación requiera un dominio Fc de inmunoglobulina de longitud completa para proporcionar sustratos adecuados para acoplar proteínas, péptidos, polímeros u otras moléculas pequeñas. De hecho, cualquier truncamiento de Fc que incluya todavía un posible sitio de conjugación reconocido por esta invención puede usarse para la conjugación. Por ejemplo, un subdominio CH2 o subdominio CH3 de un Fc mayor de aproximadamente 9 kD puede ser un "dominio Fc" útil según la invención. Por tanto, esta invención incluye truncamientos de Fc aislados, tales como los subdominios o las regiones de bucle CH2 o CH3. Además, dada la estructura tridimensional altamente conservada del "pliegue de inmunoglobina", pueden deducirse fácilmente sitios de conjugación equivalentes en otros isotipos, truncamientos y subdominios de Fc de Ig, mediante alineación de secuencias y por tanto se incluyen en esta invención.

La tabla 2 muestra residuos de superficie de Fc humano (usando el archivo 1FC1 de Protein Database como fuente de datos) (S239 del archivo de PDB corresponde a S19 de la secuencia de referencia SEQ ID NO:600 y S20 de la

secuencia de referencia SEQ ID NO:599; K246 corresponde a K26 de SEQ ID NO:600 y K27 de SEQ ID NO:599, etc.).

5 Tabla 2. Residuos de superficie de Fc humano, en los que 239S (es decir, S239) corresponde a S20 de la secuencia de referencia SEQ ID NO:599. * indica residuos que interactúan probablemente con FcRn basándose en estructuras de ratas (no buenos candidatos); # indica dominios de interacción con dímeros (no buenos candidatos); + indica los mejores candidatos para la modificación.

239S	289T	333E	382E*	419Q+
246K	290K	334K	383S	420G+
248K*	292R	335T	384N	421N+
249D	293E	337S	385G*	424S
254S*	294Q	338K	386Q*	430E
255R*	295Q+	339A	388E	431A
256T*	296Y	340K+	389N+	433H*
258E	297N+	341G+	390N	434N*
260T	298S+	342Q+	391Y	435H*
265D+	299T	344R	392K+	436Y*
267S+	300Y	345E	393T	437T
268H+	307T*	347Q	394T#	438Q*
269E+	310H*	350T	399D#	439K
270D	311Q*	354S	400S+	440S
272Q+	312N	355R+	401N	442S+
274K+	315D	356E+	402G+	
276N	316G	359T+	403S	
278Y	317K	360K+	407Y#	
280D+	318E+	361N+	409K#	
281G+	320K	362Q+	411T	
283Q	322K	371G	413D+	
285H	324S	373Y	414K+	
286N	326K+	375S	415S+	
287A	327A	376D	416R+	
288K*	330A+	380E	418Q+	

10 La tabla 3 a continuación muestra sitios priorizados para la mutación o modificación en las regiones de bucle pronosticadas del dominio Fc de IgG1 humana. Las posiciones de residuos de aminoácido se numeran en este caso en relación con la secuencia de referencia SEQ ID NO: 599.

Tabla 3. Sitios priorizados para la mutación o modificación en las regiones de bucle pronosticadas del dominio Fc de IgG1 humana.

Dominio	Bucle	Inserción
CH2	D ₄₆ -E ₅₃	H ₄₉ /E ₅₀ - 1 ^a E ₅₀ / D ₅₁ - 2 ^a
CH2	E ₇₄ -T ₈₀	Y ₇₇ /N ₇₈ - 1 ^a N ₇₈ /S ₇₉ - 2 ^a
ligador CH2-CH3	N ₁₀₆ -P ₁₂₇	K ₁₀₇ /A ₁₀₈ - 1 ^a N ₁₀₆ /K ₁₀₇ - 2 ^a
CH3	D ₁₃₇ -K ₁₄₁	L ₁₃₉ /T ₁₄₀ - 1 ^a E ₁₃₈ /L ₁₃₉ - 2 ^a
CH3	N ₁₆₅ -N ₁₇₇	E ₁₆₉ /N ₁₇₀ - 1 ^a N ₁₇₀ /N ₁₇₁ - 2 ^a
CH3	T ₁₇₅ -S ₁₈₄	S ₁₈₁ /D ₁₈₂ - 1 ^a V ₁₇₈ /L ₁₇₉ - 2 ^a
CH3	K ₁₉₅ -V ₂₀₃	G ₂₀₁ /N ₂₀₂ - 1 ^a N ₂₀₂ /V ₂₀₃ - 2 ^a

CH3	NA	Q ₁₆₇ /P ₁₆₈
CH3	NA	G ₁₈₃ /S ₁₈₄

5 En resumen, esta memoria descriptiva detalla un enfoque sistemático para la identificación de sitios de conjugación útiles en la superficie de Fc de inmunoglobulina e incluye todos los sitios de mutación descritos en el presente documento. La identificación de sitios de conjugación específicos se deduce de la aplicación de datos de secuencia y estructurales a un conjunto detallado de criterios de estructura/función desarrollados por estos inventores.

Estructura de compuestos de la invención

10 Dominios Fc. Esta composición de la invención requiere la presencia de al menos un monómero de dominio Fc, pero también se prefieren realizaciones de Fc multiméricas (por ejemplo, dímeros, trímeros, tetrámeros, pentámeros, etc. de dominios Fc). Tanto Fc nativos como variantes de Fc son dominios Fc adecuados para su uso dentro del alcance de esta invención, ya que son dominios Fc comprendidos en anticuerpos. Un Fc nativo puede modificarse de manera extensa para formar una variante de Fc según esta invención, siempre que se mantenga la unión al receptor de salvamento; véanse, por ejemplo, los documentos WO 97/34631 y WO 96/32478. En algunas realizaciones útiles, pueden eliminarse uno o más sitios de un Fc nativo que proporcionan características estructurales o actividad funcional no requeridas por una molécula de esta invención, tal como una molécula de fusión. Pueden eliminarse estos sitios, por ejemplo, sustituyendo o delecionando residuos de aminoácido, insertando residuos en el sitio o truncando partes que contienen el sitio. Los residuos insertados o sustituidos pueden ser también aminoácidos alterados, tales como peptidomiméticos o D-aminoácidos. Pueden ser deseables variantes de Fc por varios motivos, varios de los cuales se describen a continuación.

Las variantes de Fc a modo de ejemplo incluyen moléculas y secuencias en las que:

- 20 1. Se eliminan sitios implicados en la formación de enlaces disulfuro. Tal eliminación puede evitar la reacción con otras proteínas que contienen cisteínas presentes en la célula huésped usada para producir las moléculas de la invención. Para este fin, el segmento que contiene cisteínas en el extremo N-terminal puede truncarse o los residuos de cisteína pueden delecionarse o sustituirse por otros aminoácidos (por ejemplo, alanilo, serilo). Por ejemplo, puede truncarse el segmento N-terminal (truncamientos de hasta aproximadamente los primeros 20 residuos de aminoácido de la secuencia de referencia SEQ ID NO: 599 o SEQ ID NO: 600) o delecionarse o sustituirse los residuos de cisteína en las posiciones 7 y 10 de SEQ ID NO: 599 (posiciones 6 y 9 de SEQ ID NO: 600). Incluso cuando se eliminan los residuos de cisteína, los dominios Fc de cadena sencilla pueden formar todavía un dominio Fc dimérico que se mantiene junto de manera no covalente.
- 25 2. Se modifica un Fc nativo para hacerlo más compatible con una célula huésped seleccionada. Por ejemplo, puede eliminarse la secuencia PA cerca del extremo N-terminal de un Fc nativo típico, que puede reconocerse por una enzima digestiva en *E. coli* tal como prolina iminopeptidasa. También puede añadirse un residuo de metionina N-terminal, especialmente cuando la molécula se expresa de manera recombinante en una célula bacteriana tal como *E. coli*. El dominio Fc de la secuencia de referencia SEQ ID NO: 599 (figura 2) es una variante de Fc de este tipo, en la que se ha añadido una metionina al extremo N-terminal de SEQ ID NO: 600.
- 30 3. Se elimina una parte del extremo N-terminal de un Fc nativo para impedir la heterogeneidad N-terminal cuando se expresa en una célula huésped seleccionada. Para este fin, puede delecionarse cualquiera o todos los primeros 20 residuos de aminoácido en el extremo N-terminal, particularmente los que corresponden a las posiciones 1, 2, 3, 4 y 5 de la secuencia de referencia SEQ ID NO: 600.
- 35 4. Se eliminan uno o más sitios de glicosilación. Los residuos que están normalmente glicosilados (por ejemplo, asparagina) pueden conferir respuesta citolítica. Tales residuos pueden delecionarse o sustituirse por residuos no glicosilados (por ejemplo, alanina).
- 40 5. Se eliminan sitios implicados en la interacción con el complemento, tal como el sitio de unión a C1q. Por ejemplo, puede delecionarse o sustituirse la secuencia EKK de IgG1 humana. El reclutamiento del complemento puede no ser ventajoso para las moléculas de esta invención y por tanto puede evitarse con una variante de Fc de este tipo.
- 45 6. Se eliminan sitios que afectan a la unión a receptores de Fc distintos de un receptor de salvamento. Un Fc nativo puede tener sitios para la interacción con determinados glóbulos blancos que no se requieren para las moléculas de fusión de la presente invención y por tanto pueden eliminarse.
- 50 7. Se elimina el sitio ADCC. Los sitios ADCC se conocen en la técnica; véase, por ejemplo, Molec. Immunol. 29 (5): 633-9 (1992) con respecto a sitios ADCC en IgG1. Estos sitios tampoco se requieren para las moléculas de fusión de la presente invención y por tanto pueden eliminarse.
8. Cuando el Fc nativo se deriva de un anticuerpo no humano, el Fc nativo puede humanizarse. Normalmente, para humanizar un Fc nativo, se sustituirán residuos seleccionados en el Fc nativo no humano por residuos que no se encuentran normalmente en Fc nativo humano. Se conocen bien en la técnica técnicas para la humanización de anticuerpos.

Las variantes de Fc preferidas incluyen las siguientes. En la secuencia de referencia SEQ ID NO: 599 (figura 2), la leucina en la posición 15 puede sustituirse por glutamato; el glutamato en la posición 99, por alanina; y las lisinas en las posiciones 101 y 103, por alaninas. Además, pueden reemplazarse uno o más residuos de tirosina por residuos de fenilalanina.

- 5 En algunas realizaciones preferidas, el dominio Fc es un dominio Fc de IgG1 que comprende una secuencia de aminoácidos SEQ ID NO: 603:

**Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
 Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
 Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
 Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
 Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
 Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
 Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
 Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
 Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr
 Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
 Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
 Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
 Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
 Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
 Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys// (SEQ ID NO: 603); y**

- 10 el uno o más sitio(s) de conjugación específicamente seleccionado(s) se selecciona(n) de una posición de residuo de aminoácido contenida en una región de bucle que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en

Asp Glu Leu Thr Lys//SEQ ID NO: 608, y

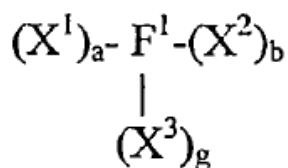
Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val

//SEQ ID NO: 611.

- 15 En las composiciones de materia preparadas según esta invención, se une covalentemente al menos un resto funcional adicional a un dominio Fc monomérico o multimérico a través de un sitio de conjugación específicamente seleccionado que implica una cadena lateral de residuo de aminoácido seleccionada tal como se describe en el presente documento. Opcionalmente, otros restos, tales como un polipéptido, péptido, peptidomimético o resto orgánico no peptídico pueden unirse al dominio Fc a través del extremo N-terminal del dominio Fc (es decir, mediante el sitio α -amino) o extremo C-terminal (es decir, mediante el sitio α -carboxilo).

- 20 Determinadas realizaciones de las moléculas de esta invención pueden describirse mediante la siguiente fórmula I:

(I)



en la que:

F¹ es un monómero del dominio Fc monomérico o multimérico;

X¹ se une covalentemente al extremo N-terminal de F¹ a través del sitio α-amino de F¹;

5 X² se une covalentemente al extremo C-terminal de F¹ a través del sitio α-carboxilo de F¹;

X³ se une covalentemente a uno o más sitio(s) de conjugación específicamente seleccionado(s) en F¹ seleccionado(s) de un residuo de cisteína añadido al dominio Fc mediante sustitución en un sitio de Fc seleccionado del grupo que consiste en Leu139, Gln143, Ser145 y Ser196, en relación con la secuencia de referencia SEQ ID NO: 599, o, si g > 1, cualquier combinación de estos miembros;

10 X¹, X² y X³ se seleccionan cada uno independientemente de -(L¹)_c-P⁰, -(L¹)_c-P¹, -(L¹)_c-P¹-(L²)_d-P², -(L¹)_c-P¹-(L²)_d-P²-(L³)_e-P³ y -(L¹)_c-P¹-(L²)_d-P²-(L³)_e-P³-(L⁴)_f-P⁴;

P⁰, P¹, P², P³ y P⁴ se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en:

i) un dextrano o polímero farmacéuticamente aceptable;

ii) un polipéptido, péptido, peptidomimético o resto orgánico no peptídico farmacológicamente activo;

15 iii) un radioisótopo, una enzima, un resto de biotililo, un fluoróforo o un cromóforo; y

iv) un sustrato inmovilizado, siempre que en una cadena que comprenda más de un resto funcional adicional, el sustrato inmovilizado sea el resto más distal de F¹, y no puede haber más de un sustrato inmovilizado en la cadena;

L¹, L², L³ y L⁴ son cada uno independientemente ligadores;

a, b, c, d, e y f son cada uno independientemente 0 ó 1; y

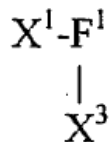
20 g es 1, 2, 3 ó 4.

Los expertos habituales en la técnica apreciarán que pueden unirse más de un resto funcional adicional (X³) al dominio Fc, y que los múltiples sustituyentes X³ pueden ser iguales o diferentes; por ejemplo, que comprenden un resto funcional P¹ igual o diferente (es decir, un P¹ en una fórmula dada puede ser igual o diferente de cualquier otro P¹, P², P³ o P⁴), diferentes ligadores unidos a la misma secuencia de péptido, y así sucesivamente. Asimismo, X¹ y X² pueden ser iguales, diferentes o estar ausentes (es decir, a y/o b = 0), y los números enteros c hasta f pueden ser diferentes para X¹, X² y X³.

25

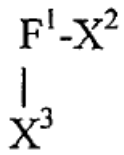
Por tanto, los compuestos de fórmula I abarcan realizaciones a modo de ejemplo de los compuestos de la invención de las siguientes fórmulas (II)-(XXVIII):

(II)



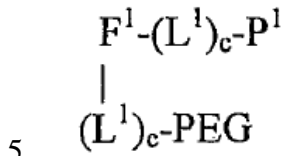
30 y multímeros de la misma, en los que a = 1, b = 0, F¹ se une al extremo C-terminal de un polipéptido o péptido comprendido en X¹, y X³ se une a través de un sitio de conjugación interno específicamente seleccionado en F¹;

(III)



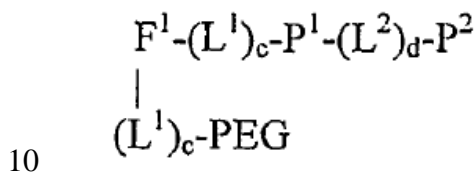
y multímeros de la misma, en los que $a = 0$, $b = 1$, F^1 se une al extremo N-terminal de un polipéptido o péptido comprendido en X^2 , y X^3 se une a través de un sitio de conjugación interno específicamente seleccionado en F^1 ;

(IV)



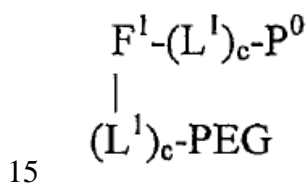
y multímeros de la misma, en los que $a = 0$, $b = 1$, F^1 se une a través del extremo N-terminal de un polipéptido o péptido P^1 comprendido en $-(L^1)_c-P^1$ y $-(L^1)_c-PEG$ se une a través de un sitio de conjugación interno específicamente seleccionado en F^1 ;

(V)



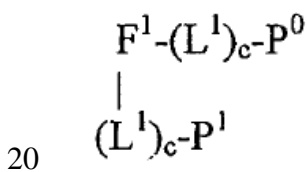
y multímeros de la misma, en los que $a = 0$, $b = 1$, F^1 se une a través del extremo N-terminal de un polipéptido o péptido P^1 comprendido en $-(L^1)_c-P^1-(L^2)_d-P^2$ y $-(L^1)_c-PEG$ se une a través de un sitio de conjugación interno específicamente seleccionado en F^1 ;

(VI)



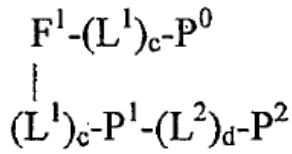
y multímeros de la misma, en los que $a = 0$, $b = 1$, F^1 se une a través del extremo N-terminal de un polipéptido o péptido P^0 comprendido en $-(L^1)_c-P^0$ y $-(L^1)_c-PEG$ se une a través de un sitio de conjugación interno específicamente seleccionado en F^1 ;

(VII)



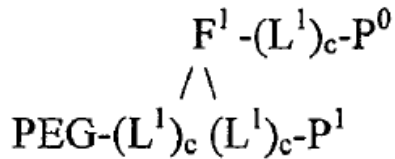
y multímeros de la misma, en los que $a = 0$, $b = 1$, F^1 se une a través del extremo N-terminal de un polipéptido o péptido P^0 comprendido en $-(L^1)_c-P^0$ y $-(L^1)_c-P^1$ se une a través de un sitio de conjugación interno específicamente seleccionado en F^1 ;

(VIII)



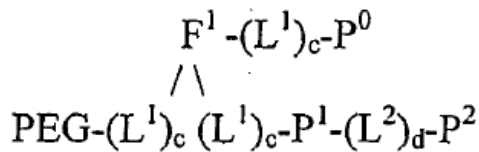
y multímeros de la misma, en los que a = 0, b = 1, F¹ se une a través del extremo N-terminal de un polipéptido o péptido P⁰ comprendido en -(L¹)_c-P⁰ y -(L¹)_c-P¹-(L²)_d-P² se une a través de un sitio de conjugación interno específicamente seleccionado en F¹;

5 (IX)



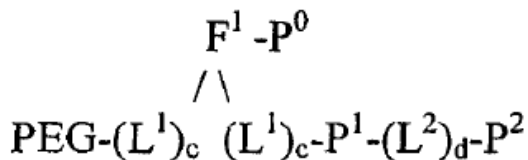
y multímeros de la misma, en los que a = 0, b = 1, g = 2, F¹ se une a través del extremo N-terminal de un polipéptido o péptido P⁰ comprendido en -(L¹)_c-P⁰, y -(L¹)_c-PEG y -(L¹)_c-P¹ se unen cada uno independientemente a través de sitios de conjugación internos específicamente seleccionados en F¹;

10 (X)



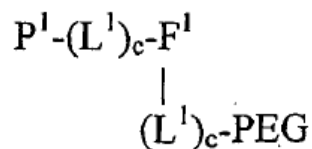
y multímeros de la misma, en los que a = 0, b = 1, g = 2, F¹ se une a través del extremo N-terminal de un polipéptido o péptido P⁰ comprendido en -(L¹)_c-P⁰ y -(L¹)_c-PEG y -(L¹)_c-P¹-(L²)_d-P² se unen cada uno independientemente a través de sitios de conjugación internos específicamente seleccionados en F¹;

15 (XI)



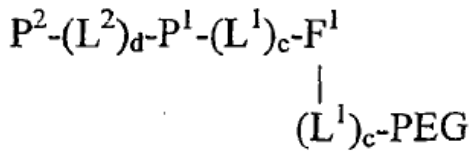
y multímeros de la misma, en los que a = 0, b = 1, F¹ se une al extremo N-terminal de un polipéptido o péptido -P⁰, y -(L¹)_c-PEG y -(L¹)_c-P¹-(L²)_d-P² se unen cada uno independientemente a través de sitios de conjugación internos específicamente seleccionados en F¹.

20 (XII)



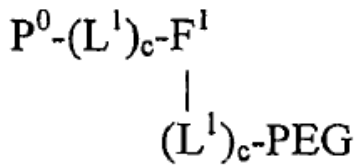
y multímeros de la misma, en los que a = 1, b = 0, F¹ se une a través del extremo C-terminal de un polipéptido o péptido P¹ comprendido en -(L¹)_c-P¹ y -(L¹)_c-PEG se une a través de un sitio de conjugación interno específicamente seleccionado en F¹;

25 (XIII)



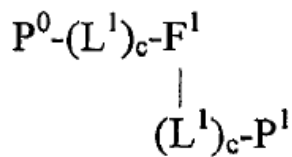
y multímeros de la misma, en los que $a = 1$, $b = 0$, F^1 se une a través del extremo C-terminal de un polipéptido o péptido P^1 comprendido en $\text{-(L}^1\text{)}_c\text{-P}^1\text{-(L}^2\text{)}_d\text{-P}^2$ y $\text{-(L}^1\text{)}_c\text{-PEG}$ se une a través de un sitio de conjugación interno específicamente seleccionado en F^1 ;

5 (XIV)



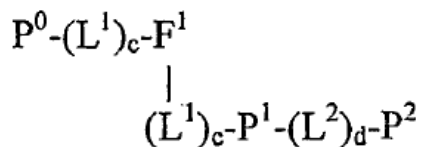
y multímeros de la misma, en los que $a = 1$, $b = 0$, F^1 se une a través del extremo C-terminal de un polipéptido o péptido P^0 comprendido en $\text{-(L}^1\text{)}_c\text{-P}^0$ y $\text{-(L}^1\text{)}_c\text{-PEG}$ se une a través de un sitio de conjugación interno específicamente seleccionado en F^1 ;

10 (XV)



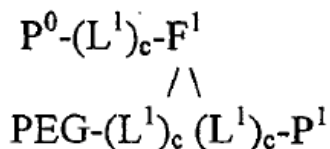
y multímeros de la misma, en los que $a = 1$, $b = 0$, F^1 se une a través del extremo C-terminal de un polipéptido o péptido P^0 comprendido en $\text{-(L}^1\text{)}_c\text{-P}^0$ y $\text{(L}^1\text{)}_c\text{-P}^1$ se une a través de un sitio de conjugación interno específicamente seleccionado en F^1 ;

15 (XVI)



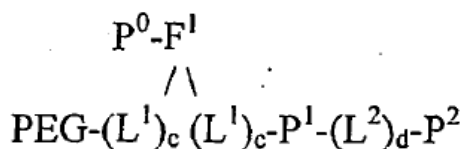
y multímeros de la misma, en los que $a = 1$, $b = 0$, F^1 se une a través del extremo C-terminal de un polipéptido o péptido P^0 comprendido en $\text{-(L}^1\text{)}_c\text{-P}^0$, y $\text{-(L}^1\text{)}_c\text{-P}^1\text{-(L}^2\text{)}_d\text{-P}^2$ se une a través de un sitio de conjugación interno específicamente seleccionado en F^1 ;

20 (XVII)



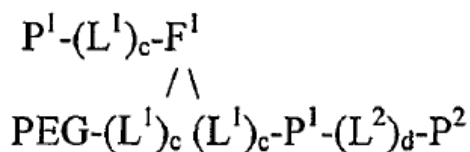
y multímeros de la misma, en los que $a = 1$, $b = 0$, $g = 2$, F^1 se une a través del extremo C-terminal de un polipéptido o péptido P^0 comprendido en $\text{-(L}^1\text{)}_c\text{-P}^0$ y $\text{(L}^1\text{)}_c\text{-PEG}$ y $\text{(L}^1\text{)}_c\text{-P}^1$ se unen cada uno independientemente a través de sitios de conjugación internos específicamente seleccionados en F^1 ;

25 (XVIII)



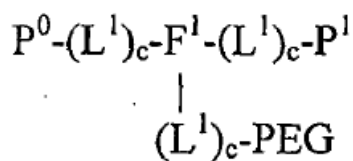
y multímeros de la misma, en los que $a = 1$, $b = 0$, $g = 2$, F^1 se une al extremo C-terminal de un polipéptido o péptido $-P^0$ y $-(L^1)_c-PEG$ y $-(L^1)_c-P^1-(L^2)_d-P^2$ se unen cada uno independientemente a través de sitios de conjugación internos específicamente seleccionados en F^1 ;

5 (XIX)



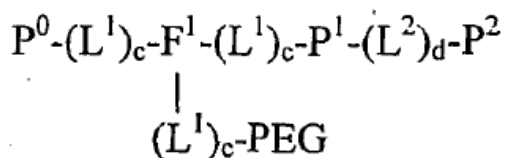
y multímeros de la misma, en los que $a = 1$, $b = 0$, $g = 2$, F^1 se une a través del extremo C-terminal de un polipéptido o péptido P^1 comprendido en $-(L^1)_c-P^1$, y $-(L^1)_c-PEG$ y $-(L^1)_c-P^2-(L^2)_d-P^2$ se unen cada uno independientemente a través de sitios de conjugación internos específicamente seleccionados en F^1 ;

10 (XX)



y multímeros de la misma, en los que $a = 1$, $b = 1$, $P^0-(L^1)_c-F^1-(L^1)_c-P^1$ se une tal como se escribe a partir del extremo N-terminal de un polipéptido o péptido P^0 al extremo C-terminal de un polipéptido o péptido P^1 y $-(L^1)_c-PEG$ se une a través de un sitio de conjugación interno específicamente seleccionado en F^1 ;

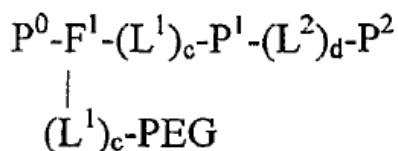
15 (XXI)



y multímeros de la misma, en los que $a = 1$, $b = 1$, $c = 1$, $P^0-(L^1)_c-F^1-(L^1)_c-P^1-(L^2)_d-P^2$ se une tal como se escribe a partir del extremo N-terminal de un polipéptido o péptido P^0 al extremo C-terminal de un polipéptido o péptido P^1 (si P^1 pero no P^2 es un polipéptido o péptido) o P^2 (si tanto P^1 como P^2 son un polipéptido o péptido) y $-(L^1)_c-PEG$ se une a través de un sitio de conjugación interno específicamente seleccionado en F^1 ;

20

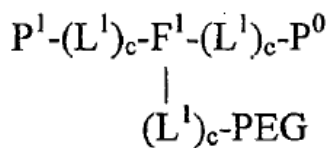
(XXII)



y multímeros de la misma, en los que $a = 1$, $b = 1$, $P^0-F^1-(L^1)_c-P^1-(L^2)_d-P^2$ se une tal como se escribe a partir del extremo N-terminal de un polipéptido o péptido P^0 al extremo C-terminal de un polipéptido o péptido P^1 (si P^1 pero no P^2 es un polipéptido o péptido) o P^2 (si tanto P^1 como P^2 son un polipéptido o péptido), y $-(L^1)_c-PEG$ se une a través de un sitio de conjugación interno específicamente seleccionado en F^1 ;

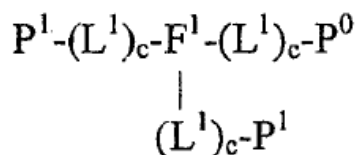
25

(XXIII)



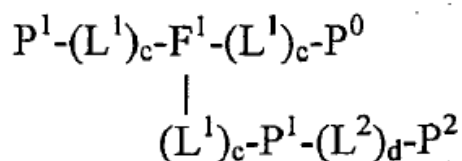
y multímeros de la misma, en los que $a = 1, b = 1, c = 1$, $P^1-(L^1)_c-F^1-(L^1)_c-P^0$ se une tal como se escribe a partir del extremo N-terminal de un polipéptido o péptido P^1 al extremo C-terminal de un polipéptido o péptido P^0 y $-(L^1)_c-PEG$ se une a través de un sitio de conjugación interno específicamente seleccionado en F^1 ;

5 (XXIV)



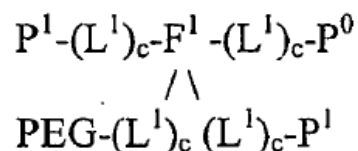
y multímeros de la misma, en los que $a = 1, b = 1, c = 1$, $P^1-(L^1)_c-F^1-(L^1)_c-P^0$ se une tal como se escribe a partir del extremo N-terminal de un polipéptido o péptido P^1 al extremo C-terminal de un polipéptido o péptido P^0 y $(L^1)_c-P^1$ se une a través de un sitio de conjugación interno específicamente seleccionado en F^1 ;

10 (XXV)



y multímeros de la misma, en los que $a = 1, b = 1, c = 1$, $P^1-(L^1)_c-F^1-(L^1)_c-P^0$ se une tal como se escribe a partir del extremo N-terminal de un polipéptido o péptido P^1 al extremo C-terminal de un polipéptido o péptido P^0 , y $-(L^1)_c-P^1-(L^2)_d-P^2$ se une a través de un sitio de conjugación interno específicamente seleccionado en F^1 ;

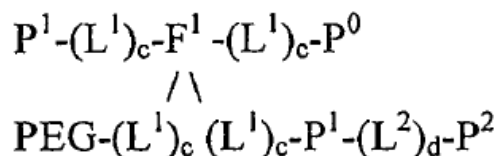
15 (XXVI)



y multímeros de la misma, en los que $a = 1, b = 1, c = 1$, $P^1-(L^1)_c-F^1-(L^1)_c-P^0$ se une tal como se escribe a partir del extremo N-terminal de un polipéptido o péptido P^1 al extremo C-terminal de un polipéptido o péptido P^0 y $-(L^1)_c-PEG$ y $-(L^1)_c-P^1$ se unen cada uno independientemente a través de sitios de conjugación internos específicamente seleccionados en F^1 ;

20

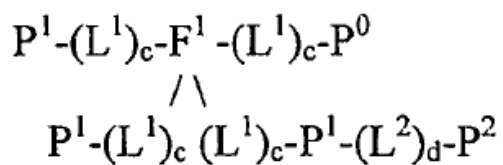
(XXVII)



y multímeros de la misma, en los que $a = 1, b = 1, c = 1$, $P^1-(L^1)_c-F^1-(L^1)_c-P^0$ se une tal como se escribe a partir del extremo N-terminal de un polipéptido o péptido P^1 al extremo C-terminal de un polipéptido o péptido P^0 , y $-(L^1)_c-PEG$ y $-(L^1)_c-P^1-(L^2)_d-P^2$ se unen cada uno independientemente a través de sitios de conjugación internos específicamente seleccionados en F^1 ; y

25

(XXVIII)



5 y multímeros de la misma, en los que $a = 1$, $b = 1$, $c = 1$, $P^1(L^1)_c-F^1(L^1)_c-P^0$ se une tal como se escribe a partir del extremo N-terminal de un polipéptido o péptido P^1 al extremo C-terminal de un polipéptido o péptido P^0 , y el segundo $-(L^1)_c-P^1$ y $(L^1)_c-P^2-(L^2)_d-P^2$ se unen cada uno independientemente a través de sitios de conjugación internos específicamente seleccionados en F^1 .

10 En otra realización de la presente invención, la composición de materia es un anticuerpo modificado, que comprende al menos un resto funcional adicional (X^3) unido covalentemente al dominio Fc del anticuerpo a través de uno o más sitios de conjugación específicamente seleccionado(s) en el dominio Fc. El sitio de conjugación, o sitios, se seleccionan de: las posiciones de residuos subrayados en la figura 1, las posiciones de residuos en negrita en la figura 2, las posiciones de residuos resaltados en la figura 3, las posiciones de residuos subrayados en la figura 3 o un residuo de cisteína añadido al dominio Fc mediante sustitución en un sitio Fc seleccionado del grupo que consiste en Leu139, Gln143, Ser145 y Ser196, o, si hay más de un X^3 , cualquier combinación de estos miembros. X^3 se selecciona de $-(L^1)_c-P^0$, $-(L^1)_c-P^1$, $-(L^1)_c-P^1-(L^2)_d-P^2$, $-(L^1)_c-P^1-(L^2)_d-P^2-(L^3)_e-P^3$ y $-(L^1)_c-P^1-(L^2)_d-P^2-(L^3)_e-P^3-(L^4)_f-P^4$;

P^0 , P^1 , P^2 , P^3 y P^4 se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en:

- 15 i) un dextrano o polímero farmacéuticamente aceptable;
- ii) un polipéptido, péptido, peptidomimético o resto orgánico no peptídico farmacológicamente activo;
- iii) un radioisótopo, una enzima, un resto de biotilino, un fluoróforo o un cromóforo; y
- iv) un sustrato inmovilizado, siempre que en una cadena que comprende más de un resto funcional adicional, el sustrato inmovilizado sea el resto más distal del dominio Fc, y no puede haber más de un sustrato inmovilizado en la
- 20 cadena;

L^1 , L^2 , L^3 y L^4 son cada uno independientemente ligadores;

c , d , e y f son cada uno independientemente 0 ó 1.

Resto o restos funcionales adicionales (X^3)

25 Algunas realizaciones del resto funcional adicional, o restos, (es decir, P^0 , P^1 , P^2 , P^3 , P^4) que pueden conjugarse con el dominio Fc, según la presente invención, se mostrarán ahora a modo de ejemplo en mayor detalle.

30 Polipéptidos o péptidos. Se conjugan uno o más restos funcionales adicionales con las moléculas de dominio Fc de esta invención. Tales restos funcionales adicionales pueden incluir un polipéptido, un péptido, un anticuerpo, fragmento de anticuerpo, (o una molécula orgánica no peptídica, "moléculas pequeñas", por ejemplo, un compuesto peptidomimético) que puede unirse a un receptor de salvamento. Por ejemplo, puede usarse como resto funcional un polipéptido tal como se describe en la patente estadounidense n.º 5.739.277, expedida el 14 de abril de 1998 concedida a Presta *et al.* También pueden seleccionarse péptidos de interés mediante presentación en fago para la unión al receptor de salvamento FcRn. Tales compuestos que se unen al receptor de salvamento también se incluyen dentro del significado de "resto funcional" en esta invención. Tales restos funcionales pueden seleccionarse, por ejemplo, para lograr un aumento de la semivida (por ejemplo, evitando secuencias reconocidas por proteasas) y una disminución de la inmunogenicidad (por ejemplo, favoreciendo secuencias no inmunogénicas, tal como se descubre en la humanización de anticuerpos).

35

40 En otras realizaciones, puede usarse una variedad de otros péptidos o polipéptidos como resto funcional adicional conjuntamente con la presente invención. Los polipéptidos a modo de ejemplo que pueden usarse incluyen los mencionados como parejas de fusión en la tabla 1 anteriormente en el presente documento. Los polipéptidos preferidos tienen utilidad terapéutica e incluyen las proteínas humanas anakinra, sTNF-R2, sTNF-R1, CTLA4, OPG, GDNF, fragmentos de PTH, fragmentos de glucagón, GLP-1, y similares. Por consiguiente, una secuencia de polipéptido preferida es la secuencia sTNF-R2 a continuación:

QICNVVAIPGNASMDAVCTSTSPTRSMAPGAVHLPQPVSTRSQHTQPTPE
 PSTAPSTSFLLPMGPSPPAEGSTGDFALPVGLIVGVTALGLLIIGVVNCV
 IMTQVKKKPLCLQREAKVPHLPADKARGTQGPEQQHLLITAPSSSSSSSLE
 SSASALDRRAPTRNQPQAPGVEASGAGEARASTGSSSDSSPGGHGTQVNVV
 CIVNVCSSSDHSSQCSSQASSTMGDTDSSPSESPKDEQVPFSKEECAFRS
 QLETPETLLGSTEEKPLPLGVDPDAGMKPS//((SEQ ID NO: 617)

5 Según la presente invención, pueden modificarse proteínas de fusión de Fc que comprenden tales polipéptidos añadiendo un resto funcional adicional tal como PEG a través de un sitio seleccionado en el dominio Fc. De este modo, por ejemplo, un derivado PEGilado de etanercept está dentro del alcance de esta invención en el que la molécula de PEG se une a través de un sitio seleccionado en el dominio Fc de etanercept. Una molécula de este tipo puede describirse mediante la fórmula XIV anterior en la que $P^0-(L^1)_c-F^1$ codifica para etanercept (en la que P^0 es SEQ ID NO: 618:

1 Leu-Pro-Ala-Gln-Val-Ala-Phe-Thr-Pro-Tyr-

11 Ala-Pro-Glu-Pro-Gly-Ser-Thr-Cys-Arg-Leu-

21 Arg-Glu-Tyr-Tyr-Asp-Gln-Thr-Ala-Gln-Met-
 31 Cys-Cys-Ser-Lys-Cys-Ser-Pro-Gly-Gln-His-
 41 Ala-Lys-Val-Phe-Cys-Thr-Lys-Thr-Ser-Asp-
 51 Thr-Val-Cys-Asp-Ser-Cys-Glu-Asp-Ser-Thr-
 61 Tyr-Thr-Gln-Leu-Trp-Asn-Trp-Val-Pro-Glu-
 71 Cys-Leu-Ser-Cys-Gly-Ser-Arg-Cys-Ser-Ser-
 81 Asp-Gln-Val-Glu-Thr-Gln-Ala-Cys-Thr-Arg-
 91 Glu-Gln-Asn-Arg-Ile-Cys-Thr-Cys-Arg-Pro-
 101 Gly-Trp-Tyr-Cys-Ala-Leu-Ser-Lys-Gln-Glu-
 111 Gly-Cys-Arg-Leu-Cys-Ala-Pro-Leu-Arg-Lys-
 121 Cys-Arg-Pro-Gly-Phe-Gly-Val-Ala-Arg-Pro-
 131 Gly-Thr-Glu-Thr-Ser-Asp-Val-Val-Cys-Lys-
 141 Pro-Cys-Ala-Pro-Gly-Thr-Phe-Ser-Asn-Thr-
 151 Thr-Ser-Ser-Thr-Asp-Ile-Cys-Arg-Pro-His-
 161 Gln-Ile-Cys-Asn-Val-Val-Ala-Ile-Pro-Gly-
 171 Asn-Ala-Ser-Met-Asp-Ala-Val-Cys-Thr-Ser-
 181 Thr-Ser-Pro-Thr-Arg-Ser-Met-Ala-Pro-Gly-
 191 Ala-Val-His-Leu-Pro-Gln-Pro-Val-Ser-Thr-
 201 Arg-Ser-Gln-His-Thr-Gln-Pro-Thr-Pro-Glu-
 211 Pro-Ser-Thr-Ala-Pro-Ser-Thr-Ser-Phe-Leu-
 221 Leu-Pro-Met-Gly-Pro-Ser-Pro-Pro-Ala-Glu-
 231 Gly-Ser-Thr-Gly-Asp-Glu-Pro-Lys-Ser-Cys-
 241 Asp-Lys-Thr-His-Thr-Cys-Pro-Pro-Cys-Pro-
 251 Ala-Pro-Glu-Leu-Leu-Gly-Gly-Pro-Ser-Val-
 261 Phe-Leu-Phe-Pro-Pro-Lys-Pro-Lys-Asp-Thr-
 271 Leu-Met-Ile-Ser-Arg-Thr-Pro-Glu-Val-Thr-
 281 Cys-Val-Val-Val-Asp-Val-Ser-His-Glu-Asp-
 291 Pro-Glu-Val-Lys-Phe-Asn-Trp-Tyr-Val-Asp-
 301 Gly-Val-Glu-Val-His-Asn-Ala-Lys-Thr-Lys-
 311 Pro-Arg-Glu-Glu-Gln-Tyr-Asn-Ser-Thr-Tyr-
 321 Arg-Val-Val-Ser-Val-Leu-Thr-Val-Leu-His-

331 Gln-Asp-Trp-Leu-Asn-Gly-Lys-Glu-Tyr-Lys-
 341 Cys-Lys-Val-Ser-Asn-Lys-Ala-Leu-Pro-Ala-
 351 Pro-Ile-Glu-Lys-Thr-Ile-Ser-Lys-Ala-Lys-
 361 Gly-Gln-Pro-Arg-Glu-Pro-Gln-Val-Tyr-Thr-
 371 Leu-Pro-Pro-Ser-Arg-Glu-Glu-Met-Thr-Lys-
 381 Asn-Gln-Val-Ser-Leu-Thr-Cys-Leu-Val-Lys-
 391 Gly-Phe-Tyr-Pro-Ser-Asp-Ile-Ala-Val-Glu-
 401 Trp-Glu-Ser-Asn-Gly-Gln-Pro-Glu-Asn-Asn-
 411 Tyr-Lys-Thr-Thr-Pro-Pro-Val-Leu-Asp-Ser-
 421 Asp-Gly-Ser-Phe-Phe-Leu-Tyr-Ser-Lys-Leu-
 431 Thr-Val-Asp-Lys-Ser-Arg-Tip-Gln-Gln-Gly-
 441 Asn-Val-Phe-Ser-Cys-Ser-Val-Met-His-Glu-
 451 Ala-Leu-His-Asn-His-Tyr-Thr-Gln-Lys-Ser-
 461 Leu-Ser-Leu-Ser-Pro-Gly-Lys // SEQ ID NO: 618,

y c es 0) o una molécula basada en la secuencia de etanercept con uno o más residuos modificados para permitir el enlace al sustituyente (L¹)_c-PEG.

5 También según esta invención, puede unirse un péptido o resto funcional de polipéptido adicional a través de un sitio seleccionado en el dominio Fc. Alternativamente, la proteína de fusión polipéptido-Fc puede unirse a un péptido o dímero, trímero o tetramero en tándem (es decir, -(L¹)_c-P¹, -(L¹)_c-P¹-(L²)_d-P², -(L¹)_c-P¹-(L²)_d-P²-(L³)_e-P³ y -(L¹)_c-P¹-(L²)_d-P²-(L³)_e-P³-(L⁴)_f-P⁴). Los péptidos pueden unirse a través de un sitio Fc interno seleccionado o en un extremo N- o C-terminal disponible de la proteína de fusión. De este modo, esta invención abarca un derivado de etanercept que comprende, por ejemplo, un dímero de péptido de unión a BAFF (véase la tabla 10 a continuación en el presente documento), un resto de PEG o ambos. En una molécula de este tipo, por ejemplo, la estructura puede seguir la fórmula XXI anterior en la que P⁰ es SEQ ID NO: 617, P¹ y P² son péptidos de unión a BAFF tales como LPGCKWDLIKQWVCDPL (SEQ ID NO: 514).

15 Puede usarse cualquier número de péptidos o polipéptidos conjuntamente con la presente invención. En algunas realizaciones, los péptidos o polipéptidos se unen a angiopoyetina-2 (ang-2), miostatina, factor de crecimiento nervioso (NGF), factor de necrosis tumoral (TNF), factor de activación de células B (BAFF, también denominado TALL-1) o imitar la actividad de EPO, TPO o G-CSF. También son de interés péptidos de direccionamiento, incluyendo péptidos que se dirigen a tumores, péptidos que se transportan por la membrana, y similares. Todas estas clases de péptidos o polipéptidos pueden descubrirse mediante métodos descritos en las referencias mencionadas en esta memoria descriptiva y otras referencias.

20 Tal como se mencionó anteriormente, la presentación en fago es útil en la generación de péptidos para su uso en la presente invención. Se ha establecido que puede usarse selección de afinidad a partir de bibliotecas de péptidos al azar para identificar ligandos peptídicos para cualquier sitio de cualquier producto génico. Dedman *et al.* (1993), J. Biol. Chem. 268: 23025-30. La presentación en fago se adecúa particularmente bien para identificar péptidos que se unen a tales proteínas de interés como receptores de superficie celular o cualquier proteína que tenga epítopos lineales. Wilson *et al.* (1998), Can. J. Microbiol. 44: 313-29; Kay *et al.* (1998), Drug Disc. Today 3: 370-8. Tales proteínas se revisan de manera extensa en Herz *et al.* (1997), J. Receptor & Signal Transduction Res. 17(5): 671-776. Tales proteínas de interés se prefieren para su uso en esta invención.

30 Un grupo particularmente preferido de péptidos son los que se unen a receptores de citocinas. Las citocinas se han clasificado recientemente según su código de receptor. Véase Inglot (1997), Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis 45: 353-7. Entre estos receptores, los más preferidos son los CKR (familia I en la tabla 4). La clasificación de receptores aparece en la tabla 4.

Tabla 4. Receptores de citocinas clasificados mediante el código de receptor

Citocinas (ligandos)		Tipo de receptor	
Familia	Subfamilia	Familia	Subfamilia
I. Citocinas hematopoyéticas	1. IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-13, IL-15 2. IL-3, IL-5, GM-CSF 3. IL-6, IL-11, IL-12, LIF, OSM, CNTF, leptina (OB) 4. G-CSF, EPO, TPO, PRL, GH 5. IL-17, HVS-IL1-7	I. R de citocinas (CKR)	1. γ Cr compartido, IL-9R, IL-4R 2. GP compartido 140 β R 3. RP compartido 130, IL-6 R, R de leptina 4. R "de cadena sencilla", GCSF-R, TPO-R, GH-R 5. Otro R ^a
II. Ligandos IL-10	IL-10, BCRF-1, HSV-IL-10	II. IL-10R	
III. Interferones	1. IFN- α 1, α 2, α 4, m, t, IFN- β ^b 2. IFN- γ	III. R de interferones	1. IFNAR 2. IFNGR
IV. Ligandos IL-1 y similares a IL-1	1. IL-1 α , IL-1 β , IL-1Ra 2. IL-18, IL-18BP	IV. IL-1R	1. IL-1R, IL-1RAcP 2. IL-18R, IL18RAcP
V. Familia de TNF	TNF- α , TNF- β (LT), FASL, CD40L, CD30L, CD27L, OX40L, OPGL, TRAIL, APRIL, AGP-3, BLys, TL5, Ntn-2, KAY, Neutrokina- α	3. NGF/TNF R ^c	TNF-RI, AGP-3R, DR4, DR5, OX40, OPG, TACI, CD40, FAS, ODR

² Otros subtipos de IFN tipo I permanecen sin asignar. Las citocinas hematopoyéticas, los ligandos IL-10 y los interferones no poseen proteínas cinasas intrínsecas funcionales. Las moléculas de señalización para las citocinas son JAK, STAT y moléculas no receptoras relacionadas. Se han clonado IL-14, IL-16 e IL-18 pero según el código de receptor permanecen sin asignar.

5 ³ Los receptores de TNF usan moléculas intracelulares múltiples, distintas para la transducción de señales incluyendo el "dominio de muerte" de FAS R y TNF- \bullet R de 55 kDa que participa en sus efectos citotóxicos. NGF/TNF R pueden unirse tanto a NGF como a factores relacionados así como ligandos TNF. Los receptores de quimiocinas son receptores de siete dominios transmembrana (7TM, serpentina). Están acoplados a proteínas G.

VI. Quimiocinas	1. α quimiocinas: IL-8, GRO α , β , γ , IF-10, PF-4, SDF-1 2. β quimiocinas: MIP1 α , MIP1 β , MCP-1,2,3,4, RANTES, eotaxina 3. γ quimiocinas: linfotactina	4. R de quimiocinas	1. CXCR 2. CCR 3. CR 4. DARC ^d
VII. Factores de crecimiento	1.1 SCF, M-CSF, PDGF-AA, AB, BB, KDR, FLT-1, FLT-3L, VEGF, SSV-PDGF, HGF, SF 1.2 FGF α , FGF β 1.3 EGF, TGF- α , VV-F19 (similar a EGF) 1.4 IGF-I, IGF-II, insulina 1.5 NGF, BDNF, NT-3, NT-4 ^c 2 TGF- β 1,2,3	VII. RKF	1. Subfamilia de TK 1.1 IgGTK III R, VEGF-RI, VEGF-RII 1.2 IgTK IV R 1.3 TK-I rico en cisteínas 1.4 TK-II rico en cisteínas, IGF-RI 1.5 TK V sin cisteínas 2. Subfamilia de serina-

	treonina cinasas (STKS) [†]
--	--------------------------------------

⁴ El antígeno del grupo sanguíneo Duffy (DARC) es un receptor de eritrocitos que puede unirse a varias quimiocinas diferentes. IL-IR pertenece a la superfamilia de inmunoglobulinas pero sus acontecimientos de transducción de señales característicos siguen estando poco claros.

⁵ Las citocinas neurotróficas pueden asociarse con receptores de NGF/TNF también.

5 ⁶ STKS pueden abarcar muchos otros factores relacionados con TGF- β que permanecen sin asignar. Las proteínas cinasas son una parte intrínseca del dominio intracelular de la familia de receptores cinasa (RKF). Las enzimas participan en la transmisión de señales mediante los receptores.

Las proteínas particulares de interés como dianas para la generación de péptidos en la presente invención incluyen, pero no se limitan a, las siguientes:

- 10 α v β 3
 α v β 1
 Ang-2
 BAFF/TALL-1
 B7
- 15 B7RP1
 CRP1
 Calcitonina
 CD28
 CETP
- 20 cMet
 Factor del complemento B
 C4b
 CTLA4
 Glucagón
- 25 Receptor de glucagón
 LIPG
 MPL
 Miostatina
- 30 Variantes de corte y empalme de moléculas expresadas preferentemente en células tumorales; por ejemplo, CD44, CD30
 Variantes no glicosiladas de glicoproteínas de superficie Lewis Y y mucina
 CD19, CD20, CD33, CD45
 Antígeno de membrana específico de la próstata y antígeno celular específico de la próstata
 Metaloproteinasas de la matriz (MMP), tanto secretadas como unidas a la membrana (por ejemplo, MMP-9)
- 35 Catepsinas
 Angiopoyetina-2
 Receptor de TIE-2
 Heparanasa

Activador del plasminógeno urocinasa (UPA), receptor de UPA

Hormona paratiroidea (PTH), proteína relacionada con hormona paratiroidea

(PTHrP), PTH-RI, PTH-RII

Her2

5 Her3

Insulina

10 Aparecen péptidos a modo de ejemplo para esta invención en las tablas 4 a 20 de la patente estadounidense n.º 6.660.843. Aparecen péptidos preferidos adicionales en el documento U.S. 2003/0229023, publicado el 11 de diciembre de 2003; el documento WO 03/057134, publicado el 17 de julio de 2003; el documento U.S. 2003/0236193, publicado el 25 de diciembre de 2003; el documento WO 00/24770, publicado el 4 de mayo de 2000; el documento U.S. 2003/0176352, publicado el 18 de septiembre de 2003; el documento WO 03/031589, publicado el 17 de abril de 2003; el documento U.S. con número de serie 10/666.480, presentado el 18 de septiembre de 2003; el documento WO 04/026329, publicado el 1 de abril de 2004; el documento U.S. con número de serie 10/742.379, presentado el 19 de diciembre de 2003; el documento PCT/US03/40781, presentado el 19 de diciembre de 2003. 15 Tales péptidos pueden prepararse mediante métodos dados a conocer en la técnica.

20 Aparecen en las tablas 5-10 a continuación las secuencias de aminoácidos de algunos péptidos y polipéptidos preferidos. Se usan abreviaturas de aminoácidos de una única letra. Cualquiera de estos péptidos puede unirse en tándem (es decir, secuencialmente), con o sin ligadores. Cualquier péptido que contenga un residuo de cisteinilo puede reticularse con otro péptido o proteína que contiene Cys. Cualquier péptido que tenga más de un residuo de Cys puede formar un enlace disulfuro intrapeptídico, también. Cualquiera de estos péptidos puede derivatizarse tal como se describe en el presente documento. Todos los péptidos se unen a través de enlaces peptídicos a menos que se indique lo contrario.

Tabla 5. Secuencias de péptidos miméticos de EPO

SECUENCIA	SEQ ID NO:
YXCXXGPXTWXCXP, en la que X es cualquier aminoácido	1
GGTYSCHFGPLTWVCKPQGG	2
GGDYHCRMGPLTWVCKPLGG	3
GGVYACRMGPITWVCSPLGG	4
VGNYMCHFGPITWVCRPGGG	5
GGLYLCRFGPVTWDCGYKGG	6
GGTYSCHFGPLTWVCKPQGGSSK	7
GGTYSCHGPLTWVCKPQGG	8
VGNYMAHMGPIWVCRPGG	9
GGPHHVYACRMGPLTWIC	10
GGTYSCHFGPLTWVCKPQ	11
GGLYACHMGPMWVCOPLRG	12
TIAQYICYMGPETWECRPSKA	13
YSCHFGPLTWVCK	14
YCHFGPLTWVC	15
GGLYLCRFGPVTWDCGYKGG	16
GGTYSCHFGPLTWVCKPQGG	17
GGDYHCRMGPLTWVCKPLGG	18

VGNYMCHFGPITWVCRPGGG	19
GGVYACRMGPITWVCSPLGG	20
VGNYPMAHMGPIWVCRPGG	21
GGTYSCHFGPLTWVCKPQ	22
GGLYACHMGPMWVWCQPLRG	23
TIAQYICYMGPETWECRPSPKA	24
YSCHFGPLTWVCK	25
YCHFGPLTWVC	26
SCHFGPLTWVCK	27

Tabla 6. Secuencias de péptidos miméticos de TPO

SECUENCIA	SEQ ID NO:
IEGPTLRQWLAARA	28
IEGPTLRQWLAACA	29
IEGPTLRQWLAARA	30
TLREWL	31
GRVRDQVAGW	32
GRVKDQIAQL	33
GVRDQVSWAL	34
ESVREQVMKY	35
SVRSQISASL	36
GVRETVYRHM	37
GVREVIVMHML	38
GRVRDQIWAAL	39
AGVRDQILIWL	40
GRVRDQIMLSL	41
CTLRQWLQGC	42
CTLQEFLEGC	43
CTRTEWLHGC	44
CTLREWLHGGFC	45
CTLREWVFAGLC	46
CTLRQWLILLGMC	47
CTLAEFLASGVEQC	48
CSLQEFLSHGGYVC	49
CTLREFLDPTTAVC	50
CTLKEWLVSHEVWC	51
REGPTLRQWM	52
EGPTLRQWLA	53
ERGPFWAKAC	54
REGPRCVMWM	55
CGTEGPTLSTWLDC	56
CEQDGPTLLEWLKC	57
CELVGPSLMSWLTC	58

CLTGPFVTQWLYEC	59
CRAGPTLLEWLTL	60
CADGPTLREWISFC	61
GGCTLREWLHGGFCGG	62
GGCADGPTLREWISFCGG	63
GNADGPTLRQWLEGRRPKN	64
LAIEGPTLRQWLHGNGRDT	65
HGRVGPTLREWKTVATKK	66
TIKGPTLRQWLKSREHTS	67
ISDGPTLKEWLSVTRGAS	68
SIEGPTLREWLTSRTPHS	69
GAREGPTLRQWLEWVRVG	70
RDLGPTLRQWLPLPSVQ	71
ALRDGPTLKQWLEYRRAQ	72
ARQEGPTLKEWLFWVRMG	73
EALLGPTLREWLAWRRAQ	74
MARDGPTLREWLRTYRMM	75
WMPEGPTLKQWLFHGRGQ	76
HIREGPTLRQWLVALRMV	77
QLGHGPTLRQWLSWYRGM	78
ELRQGPTLHEWLQHLASK	79
VGIEGPTLRQWLAQRLNP	80
WSRDGPTLREWLAWRAVG	81
AVPQGPTLKQWLLWRRCA	82
RIREGPTLKEWLAQRRGF	83
RFAEGPTLREWLEQRKLV	84
DRFQGPTLREWLAAIRSV	85
AGREGPTLREWLNMRVWQ	86
ALQEGPTLRQWLGWGWQWG	87
YCDEGPTLKQWLVCLGLQ	88
WCKEGPTLREWLRWGFLC	89
CSSGGPTLREWLOCRMQ	90
CSWGGPTLKQWLOCVRAK	91
CQLGGPTLREWLACRLGA	92
CWEGGPTLKEWLQCLVER	93
CRGGGPTLHQWLSCFRWQ	94
CRDGGPTLRQWLACLQOK	95
ELRSGPTLKEWLVWRLAQ	96
GCRSGPTLREWLACREVQ	97
TCEQGPTLRQWLLCRQGR	98
QGYCDEGPTLKQWLVCLGLQHS	99

Tabla 7. Secuencias de péptidos de unión a Ang-2

SECUENCIA	SEQ ID NO.
WDPWT	100
WDPWTC	101
CXWDPWT (en la que X es un residuo de aminoácido polar ácido o neutro)	102
CXWDPWTC (en la que X es un residuo de aminoácido polar ácido o neutro)	103
PIRQEECDWDPWTCEHMWEV	104
TNIQEECEWDPWTCDHMPGK	105
WYEQDACEWDPWTCEHMAEV	106
NRLQEVCEWDPWTCEHMENV	107
AATQEECEWDPWTCEHMPRS	108
LRHQEGCEWDPWTCEHMFWD	109
VPRQKDCEWDPWTCEHMYVG	110
SISHEECEWDPWTCEHMQVG	111
WAAQEECEWDPWTCEHMGRM	112
TWPQDKCEWDPWTCEHMGST	113
GHSQEECGWDPWTCEHMGTS	114
QHWQEECEWDPWTCDHMPK	115
NVRQEKCEWDPWTCEHMPVR	116
KSGQVECNWDPWTCEHMPRN	117
VKTQEHCDWDPWTCEHMREW	118
AWGQEGCDWDPWTCEHMLPM	119
PVNQEDCEWDPWTCEHMPPM	120
RAPQEDCEWDPWTCAHMDIK	121
HGQNMECEWDPWTCEHMFRY	122
PRLQEECVWDPWTCEHMPLR	123
RTTQEKCEWDPWTCEHMESQ	124
QTSQEDCVWDPWTCDHMVSS	125
QVIGRPCWDPWTCEHLEGL	126
WAQQEECAWDPWTCDHMVGL	127
LPGQEDCEWDPWTCEHMVRS	128
PMNQVECDWDPWTCEHMPRS	129
FGWSHGCEWDPWTCEHMGST	130
KSTQDDCDWDPWTCEHMGVP	131
GPRISTCQWDPWTCEHMDQL	132
STIGDMCEWDPWTCAHMQVD	133
VLGGQGCEWDPWTCRLLQGW	134
VLGGQGCQWDPWTCSHLEDG	135
TTIGSMCEWDPWTCAHMQGG	136
TKGKSVCQWDPWTCSHMQSG	137
TTIGSMCQWDPWTCAHMQGG	138

WVNEVVCEWDPWTCNHWDTP	139
VVQVGMCQWDPWTCKHMRLQ	140
AVGSQTCEWDPWTCAHLVEV	141
QGMKMFCEWDPWTCAHIVYR	142
TTIGSMCQWDPWTCEHMQGG	143
TSQRVGCEWDPWTCQHLYT	144
QWSWPPCEWDPWTCQTVWPS	145
GTSPSFCQWDPWTCSHMVQG	146
QEECEWDPWTCEHM	147
QNYKPLDELDAATLYEHFIFHYT	148
LNFTPLDELEQTLYEQWTLQQS	149
TKFNPLDELEQTLYEQWTLQHQ	150
VKFKPLDALEQTLYEHWMFQQA	151
VKYKPLDELDEILYEQQTFQER	152
TNFMPMDDLEQRLYEQFILQQG	153
SKFKPLDELEQTLYEQWTLQHA	154
QKFQPLDELEQTLYEQFMLQQA	155
QNFKPMDELEDTLYKQFLFOHS	156
YKFTPLDDLEQTLYEQWTLQHV	157
QEYEPLDELDETLYNQWMFHQR	158
SNFMPLDELEQTLYEQFMLQHQ	159
QKYQPLDELDKTLYDQFMLQQG	160
QKFQPLDELEETLYKQWTLQQR	161
VKYKPLDELDEWLYHQFTLHHQ	162
QKFMPLDELDEILYEQFMFQQS	163
QTFQPLDDLEEYLYEQWIRRYH	164
EDYMPLDALDAQLYEQFILLHG	165
HTFQPLDELEETLYYQWLYDQL	166
YKFNPMDELEQTLYEEFLFQHA	167
TNYKPLDELDAATLYEHWILQHS	168
QKFKPLDELEQTLYEQWTLQQR	169
TKFQPLDELDTLYEQWTLQQR	170
TNFQPLDELDTLYEQWTLQQR	171
KFNPLDELEETLYEQFTFQQ	172
AGGMRPYDGMLGWPNYDVQA	173
QTWDDPCMHLGPVTWRRCI	174
APGQRPYDGMLGWPTYQRIV	175
SGQLRPC EEIFGCGTQNLAL	176
FGDKRPLECMFGGPIQLCPR	177
GQDLRPCEDMFGCGTKDWYG	178
KRPC EEIFGGCTYQ	179
GFEYCDGMEDPFTFGCDKQT	180
KLEYCDGMEDPFTQGCNDQS	181

LQEWCEGVEDPFTFGCEKQR	182
AQDYCEGMEDPFTFGCEMQK	183
LLDYCEGVQDPFTFGCENLD	184
HQEYCEGMEDPFTFGCEYQG	185
MLDYCEGMDDPFTFGCDKQM	186
LQDYCEGVEDPFTFGCENQR	187
LQDYCEGVEDPFTFGCEKQR	188
FDYCEGVEDPFTFGCDNH	189

Tabla 8. Secuencias de péptidos de unión a NGF

SECUENCIA	SEQ ID NO.
TGYTEYTEEWPMGFGYQWSF	190
TDWLSDFPFYEQYFGLMPPG	191
FMRFPNPWKLVEPPQGWYYG	192
VVKAPHFEFLAPPHFHEFPF	193
FSYIWIDETPSNIDRYMLWL	194
VNFPKVPEDVEPWPSLKLKLY	195
TWHPKTYEEFALPFFVPEAP	196
WHFGTPYIQQPGVYWLQAP	197
VWNYGPFMNFDPSTYFLHE	198
WRIHSKPLDYSHVWFFPADF	199
FWDGNQPPDILVDWPWNPPV	200
FYSLEWLKDHSEFFQTVTEW	201
QFMELKFFNSPGDSSHFL	202
TNVDWISNNWEHMKSFTEDE	203
PNEKPYQMOSWFPPDWPVPY	204
WSHTEWVPQVWWKPPNHFYV	205
WGEWINDAQVHMHEGFISES	206
VPWEHDHDLWEIISQDWHIA	207
VLHLQDPRGWSNFPPGVLEL	208
IHGCWFTEEGCVWQ	209
YMQCQFARDGCPQW	210
KLQCQYSESGCPTI	211
FLQCEISGGACPAP	212
KLQCEFSTSGCPDL	213
KLQCEFSTQGCPDL	214
KLQCEFSTSGCPWL	215
IQGCWFTEEGCPWQ	216
SFDCDNPWGHVLQSCFGF	217
SFDCDNPWGHKLQSCFGF	218

Tabla 9. Secuencias de péptidos o polipéptidos de unión a miostatina

SECUENCIA	SEQ ID NO:
KDKCKMWHWMCKPP	616
KDLCAMWHWMCKPP	219
KDLCKMWKWMCKPP	220
KDLCKMWHWMCKPK	221
WYPCYEFHFWCYDL	222
WYPCYEGHFWCYDL	223
IFGCKWWDVQCYQF	224
IFGCKWWDVDCYQF	225
ADWCVSPNWFCMVM	226
HKFCPWWALFCWDF	227
KDLCKMWHWMCKPP	228
IDKCAIWGWMCPP	229
WYPCGEFGMWCLNV	230
WFTCLWNCNE	231
HTPCPWFAPLCVEW	232
KEWCWRWKWMCKPE	233
FETCPSWAYFCLDI	234
AYKCEANDWGCWWL	235
NSWCEDQWHRCWWL	236
WSACYAGHFWCYDL	237
ANWCVSPNWFCMVM	238
WTECYQQEFWCWNL	239
ENTCERWKWMCPPK	240
WLPCHQEGFWMNF	241
STMCSQWHWMCNPF	242
IFGCHWWDVDCYQF	243
IYGCKWWDIQCYDI	244
PDWCIDPDWWCKFW	245
QGHCTRWPWMCPY	246
WQECYREGFWCLQT	247
WFDCYGPFGKCWSP	248
GVRCPKGHLWCLYP	249
HWACGYWPWSCKWV	250
GPACHSPWWCVFG	251
TTWCISPMWFCSQQ	252
HKFCPPWAIFCWDF	253
PDWCVSPRWYCNMW	254
VWKCHWFGMDCEPT	255

KKHCQIWTWMCAPK	256
WFQCGSTLFWCYNL	257
WSPCYDHYFYCYTI	258
SWMCGFFKEVCMWV	259
EMLCMIHPVFCNPH	260
LKTCNLWPWMCPPPL	261
VVGCKWYEAWCYNK	262
PIHCTQAWMCPPT	263
DSNCPWYFLSCVIF	264
HIWCNLAAMKCVEM	265
NLQCIYFLGKCIYF	266
AWRCMWFSVDVCTPG	267
WFRCLDADWCTSV	268
EKICQMWSWMCAPP	269
WFYCHLNKSECTEP	270
FWRCAIGIDKCKRV	271
NLGCKWYEVWCFTY	272
IDLCNMWDGMCYPP	273
EMPCNIWGWMCPPV	274
WFRCVLTGIVDWSECFGL	275
GFSCTFGLDEFYVDCSPF	276
LPWCHDQVNADWGFCLW	277
YPTCSEKFWIYGQTCVLW	278
LGPCPIHHGPWPQYCVYW	279
PFPCEHQISWLGHCLSF	280
HWGCEDLMWSWHPLCRRP	281
LPLCDADMPTIGFCVAY	282
SHWCETTFWMNYAKCVHA	283
LPKCTHVPFDQGGFCLWY	284
FSSCWSPVSRQDMFCVFY	285
SHKCEYSGWLQPLCYRP	286
PWWCQDNYVQHMLHCDSP	287
WFRCLMLNSFDAFQCVSY	288
PDACRDQPWYFMFGCMLG	289
FLACFVEFELCFDS	290
SAYCIITESDPYVLCVPL	291
PSICESYSTEMWLPMCQHN	292
WLDCHDDSWAWTKMCRSH	293
YLNCVMMNTSPFVECVFN	294
YPWCDGFMIIQQGITCMFY	295
FDYCTWLNGFKDWKCWSR	296
LPLCNLKEISHVQACVLF	297
SPECAFARWLGIEQCQRD	298
YPQCFNLHLLWTECDWF	299

RWRCEIYDSEFLPKCWFF	300
LVGCDNVWHRCKLF	301
AGWCHVWGEMFGMGCSAL	302
HHECEWMARWMSLDCVGL	303
FPMCGIAGMKDFDFCVWY	304
RDDCTFWPEWLWKLCEP	305
YNFCSYLFVGSKEACQLP	306
AHWCEQGPWRYGNICMAY	307
NLVCGKISAWGDEACARA	308
HNVCTIMGPSMKWFCWWD	309
NDLCAMWGWRTIWCQNS	310
PPFCQNDNDMLQSLCKLL	311
WYDCNVPNELLSGLCRLF	312
YGDCDQNHWMWPFTCLSL	313
GWMCHFDLHDWGATCQPD	314
YFHCMFGGHEFEVHCESE	315
AYWCWHGQCVRF	316
SEHWTFTDWDGNEWVVRPF	317
MEMLDSLFELKDMVPISKA	318
SPPEEALMEWLGWQYGKFT	319
SPENLLNDLYILMTKQEWYG	320
FHWEEGIPFHVVTPTYSDRM	321
KRLLEQFMNDLAEVSGHS	322
DTRDALFQEFYEFVRSRLVI	323
RMSAAPRPLTYRDIMDQYWH	324
NDKAHFFEMFMDVHNFVES	325
QTQAQKIDGLWELLQSIRNQ	326
MLSEFEEFLGNLVHRQEA	327
YTPKMGSEWTSFVHNRIHYL	328
LNDTLLRELKMVLNSLSDMK	329
FDVERDLMRWLEGFMQSAAT	330
HHGWNYLKRGSAPOWFEAWV	331
VESLHQLQMWLDQKLASGPH	332
RATLLKDFWQLVEGYGDN	333
EELLREFYRFVSAFDY	334
GLLDEFSHFIAEQFYQMPGG	335
YREMSMLEGLLDVLERLOHY	336
HNSSQMLLSELIMLVGSMMQ	337
WREHFLNSDYIRDKLIADG	338
QPPFYVFDDLPAQLEYWIA	339
EFFHWLHNRSEVNHWLDMN	340
EALFQNFRRDVLTLSEREY	341
QYWEQQWMTYFRENGLHVQY	342
NQRMMLEDLWRIMTPMFGRS	343

FLDELKAELSRHYALDDLDE	344
GKLEGLLNELMQLETMPD	345
ILLDEYKKDWSWF	346
QGHCTRWPWMCPYPYSGSGSATGGSGSTAS SGSGSATGQGHCTRWPWMCPYPY	347
WYPCYEGHFWCYDLGSGSTASSGSGSAT GWYPCYEGHFWCYDL	348
HTPCPWFAPLCVEWGSATGGSGSTAS SGSGSATGHTPCPWFAPLCVEW	349
PDWCIDPDWWCKFWGSGSATGGSGSTA SSGSGSATGPDWCIDPDWWCKFW	350
ANWCVSPNWFCMVMGSGSATGGSGSTA SSGSGSATGANWCVSPNWFCMVM	351
PDWCIDPDWWCKFWGSGSATGGSGSTA SSGSGSATGPDWCIDPDWWCKFW	352
HWACGYWPWSCKWVGSGSATGGSGST ASSGSGSATGHWACGYWPWSCKWV	353
KKHCQIWTWMCAPKSGSGSATGGSGSTAS SGSGSATGQGHCTRWPWMCPYPY	354
QGHCTRWPWMCPYPYSGSGSATGGSGSTAS SGSGSATGKKHCQIWTWMCAPK	355
KKHCQIWTWMCAPKSGSGSATGGSGSTAS SGSGSATGQGHCTRWPWMCPYPY	356
KKHCQIWTWMCAPKGGGGGGGGQGH TRWPWMCPYPY	357
QGHCTRWPWMCPYPYGGGGGGKKHCQI WTWMCAPK	358
VALHGQCTRWPWMCPPQREG	359
YPEQGLCTRWPWMCPPQTLA	360
GLNQGHCTRWPWMCPPQDSN	361
MITQGQCTRWPWMCPPQPSG	362
AGAQEHCTRWPWMCAPNDWI	363
GVNQGQCTRWRWMCPPNGWE	364
LADHGQCIRWPWMCPPEGWE	365
ILEQAQCTRWPWMCPPQRGG	366
TQTHAQCTRWPWMCPPQWEG	367
VVTQGHCTLWPWMCPPQRWR	368
IYPHDQCTRWPWMCPPQPYP	369
SYWQGQCTRWPWMCPPQWRG	370
MWQQGHCTRWPWMCPPQGWG	371
EFTQWHCTRWPWMCPPQRSQ	372
LDDQWQCTRWPWMCPPQGFS	373
YQTQGLCTRWPWMCPPQSQR	374
ESNQGQCTRWPWMCPPQGGW	375

WTDRGPCTRWPWMCPPQANG	376
VGTOGQCTRWPWMCPPYETG	377
PYEQGKCTRWPWMCPPYEVE	378
SEYQGLCTRWPWMCPPQGWK	379
TFSQGHCTRWPWMCPPQGWG	380
PGAHDHCTRWPWMCPPQSRY	381
VAEWHCRRWPWMCPPQDWR	382
VGTOGHCTRWPWMCPPQAG	383
EEDQAHCERSWPWMCPPQGWV	384
ADTOGHCTRWPWMCPPQHWF	385
SGPQGHCTRWPWMCAPQGW	386
TLVQGHCTRWPWMCPPQRWV	387
GMAHGKCTRWAWMCPPQSWK	388
ELYHGQCTRWPWMCPPQSWA	389
VADHGHCTRWPWMCPPQGWG	390
PESQGHCTRWPWMCPPQGWG	391
IPAHHGCTRWPWMCPPQRWR	392
FTVHGHCTRWPWMCPPYGWV	393
PDFPGHCTRWRWMCPPQWE	394
QLWQGPCTQWPWMCPPKGRY	395
HANDGHCTRWQWMCPPQWGG	396
ETDHGLCTRWPWMCPPYGAR	397
GTWQGLCTRWPWMCPPQGWQ	398
VATQGQCTRWPWMCPPQGWG	399
VATQGQCTRWPWMCPPQRWG	400
QREWYPCYGGHLWCYDLHKA	401
ISAWYSCYAGHFWCWDLKQK	402
WTGWYQCYGGHLWCYDLRRK	403
KTFWYPCYDGHFWCYNLKSS	404
ESRWYPCYEGHLWCFDLTET	405
MEMLDSLFELLKDMVPISKA	406
RMEMLESLELLKEIVPMSKAG	407
RMEMLESLELLKEIVPMSKAR	408
RMEMLESLELLKDIVPMSKPS	409
GMEMLESLELLQEIVPMSKAP	410
RMEMLESLELLKDIVPISNPP	411
RIEMLESLELLQEIVPISKA	412
RMEMLQSLLELLKDIVPMSNAR	413
RMEMLESLELLKEIVPTSNGT	414
RMEMLESLELLKEIVPMSKAG	415
RMEMLGSLELLKEIVPMSKAR	416
QMELLDLSELLKEIVPKSQA	417
RMEMLDSLELLKEIVPMSNAR	418
RMEMLESLELLHEIVPMSQAG	419

QMEMLESLLQLLKEIVPMSKAS	420
RMEMLDSLLELLKDMVPMTTGA	421
RIEMLESLELLKDMVPMANAS	422
RMEMLESLLQLLNEIVPMSRAR	423
RMEMLESDFDLLKELVPMSKGV	424
RIEMLESLELLKDIVPIQKAR	425
RMELLESFELLKDMVPMSDSS	426
RMEMLESLEVLQEIVPRAKGA	427
RMEMLDSLLQLLNEIVPMSHAR	428
RMEMLESLELLKDIVPMSNAG	429
RMEMLQSLFELLKGMVPISKAG	430
RMEMLESLELLKEIVPNSTAA	431
RMEMLQSLLELLKEIVPISKAG	432
RIEMLDSLLELLNELVPMSKAR	433
HHGWNLYLRKGSAPQWFEAWV	434
QVESLQQLLMWLDQKLAGSPQG	435
RMELLESFELLKEMVPRSKAV	436
QAVSLQHLLMWLDQKLAGSPQH	437
DEDSLQQLLMWLDQKLAGSPQL	438
PVASLQQLLIWLDQKLAQGPHA	439
EVDELQQLLNWLDHKLASGPLQ	440
DVESLEQLLMWLDHQLASGPHG	441
QVDSLQQVLLWLEHKLALGPQV	442
GDESLQHLLMWLEQKLALGPHG	443
QIEMLESLLDLLRDMVPMSNAF	444
EVDSLQQLLMWLDQKLAGSPQA	445
EDESLQQLLIYLDKMLSSGPQV	446
AMDQLHQLLIWLDHKLASGPQA	447
RIEMLESLELLDEIALIPKAW	448
EVVSLQHLLMWLEHKLASGPDG	449
GGESLQQLLMWLDQQLASGPQR	450
GVESLQQLLIFLDHMLVSGPHD	451
NVESLEHLMMWLERLLASGPYA	452
QVDSLQQLLIWLDHQLASGPKR	453
EVESLQQLLMWLEHKLAQGPQG	454
EVDSLQQLLMWLDQKLAGSPHA	455
EVDSLQQLLMWLDQQLASGPQK	456
GVEQLPQLLMWLEQKLASGPQR	457
GEDSLQQLLMWLDQQLAAGPQV	458
ADDSLQQLLMWLDLDRKLASGPHV	459
PVDSLQQLLIWLDQKLAGSPQG	460
RATLLKDFWQLVEGYGDN	461
DWRATLLKEFWQLVEGLGDNLV	462
QSRATLLKEFWQLVEGLGDKQA	463

DGRATLLTEFWQLVQGLGQKEA	464
LARATLLKEFWQLVEGLGEKVV	465
GSRDTLLKEFWQLVVGLGDMQT	466
DARATLLKEFWQLVDAYGDRMV	467
NDRAQLLRDFWQLVDGLGVKSW	468
GVRETLLYELWYLLKGLGANQG	469
QARATLLKEFCQLVGCQGDKLS	470
QERATLLKEFWQLVAGLGQNMNR	471
SGRATLLKEFWQLVQGLGEYRW	472
TMRATLLKEFWLFDVGDQREMOW	473
GERATLLNDFWQLVDGQGDNTG	474
DERETLLKEFWQLVHGWGDNVA	475
GGRATLLKELWQLLEGQGANLV	476
TARATLLNELVQLVKGYGDKLV	477
GMRATLLQEFWQLVGGQGDNWM	478
STRATLLNDLWQLMKGWAEDRG	479
SERATLLKELWQLVGGWGDNFG	480
VGRATLLKEFWQLVEGLVGQSR	481
EIRATLLKEFWQLVDEWREQPN	482
QLRATLLKEFLQLVHGLGETDS	483
TQRATLLKEFWQLIEGLGGKHV	484
HYRATLLKEFWQLVDGLREQGV	485
QSRVTLLREFWQLVESYRPIVN	486
LSRATLLNEFWQFVDGQRDKRM	487
WDRATLLNDFWHLMEELSQKPG	488
QERATLLKEFWRMVEGLGKNRG	489
NERATLLREFWQLVGGYGVNQR	490
YREMSMLEGLLDVLERLQHY	491
HQRDMSMLWELLDVLDGLRQYS	492
TQRDMSMLDGLLEVLDQLRQQR	493
TSRDMSLLWELLEELDRLGHQR	494
MQHDMSMLYGLVELLES LGHQI	495
WNRDMRMLES LFEVLDGLRQQV	496
GYRDMSMLEGLLA VLDRLGPQL	497
TQRDMSMLEGLLEVLDRLGQQR	498
WYRDMSMLEGLLEVLDRLGQQR	499
HNSSQMLLSELIMLVGSMMQ	500
TQNSRQMLLSDFMMLVGSMIQQ	501
MQTSRHILLSEFMMLVGSIMHG	502
HDNSRQMLLSDLLHLVGTMIQQ	503
MENSRQNLLRELIMLVGNMSHQ	504
QDTSRHMLLREFMMLVGEMIQG	505
DQNSRQMLLS DLMILVGSMIQQ	506
EFFHWLHNHRSEVNHWLDMN	507
NVFFQWVQKHGRVVYQWLDINV	508
FDFLQWLQNHRSEVEHWLVMDV	509

Tabla 10. Secuencias de péptidos de unión a BAFF

SECUENCIA	SEQ ID NO:
PGTCFFPWECTHA	510
WGACWFFPWECFKE	511
VPFCDLLTKHCFEA	512
GSRCKYKWDVLTKQCFHH	513
LPGCKWDLLIKQWVCDPL	514
SADCYFDILTKSDVCTSS	515
SDDCMYDQLTRMFICSNL	516
DLNCKYDELTYKEWCQFN	517
FHDCKYDLLTRQMVCHGL	518
RNHCFWDHLLKQDICPSP	519
ANQCWWDLSLTKKNVCEFF	520
YKGRQQMWDILTRSWVSL	521
QQDVGLWWDILTRAWMPNI	522
QQNAQRVWDLIRTWVYPQ	523
GWNEAWWDELTKIWVLEQQ	524
RITCDTWDSLKKCVQQS	525
GAIMQQFWDSLTKTWLRQS	526
WLHSGWWDPLTKHWLQQKV	527
SEWFFWFDPLTRAQQLKFR	528
GVWFWWFDPLTKQWTQQAG	529
MQQCKGYDILTKWCVTNG	530
LWSKEVWDILTKSWVSQQA	531
KAAGWWFDWLTKVWVPAP	532
AYQQTWFWDLSLTRLWLSTT	533
SGQQHFWWDLTRSWTPST	534
LGVGQQKWDPLTKQWVSRG	535
VGKMCQQWDPLIKRTVCVG	536
CRQGAKFDLLTKQCLLGR	537
GQAIRHWDVLTKQWVDSQQ	538
RGPCGSWDLLTKHCLDSQQ	539
WQWKQQQWDLTKQMVWVG	540
PITICRKDLLTKQVVCLD	541
KTCNGKWDLLTKQCLQQQA	542
KCLKGKWDLLTKQCVTEV	543
RCWNGKWDLLTKQCIHPW	544
NRDMRKWDPLIKQWIVRP	545
QAAAAATWDLTKQWLVP	546

PEGGPKWDPLTKQQFLPPV	547
QQTPQQKKWDLTKQWFTRN	548
IGSPCKWDLTKQMICQQT	549
CTAAGKWDLTKQCIQQEK	550
VSQCMKWDLTKQCLQQGW	551
VWGTWKWDLTKQYLPPQQ	552
GWWEMKWDLTKQWYRPOQ	553
TAQQVSKWDLTKQWLPLA	554
QLWGTKWDLTKQYIQQIM	555
WATSQKWDLTKQWVQQNM	556
QQRQCAKWDLTKQCVLFY	557
KTTDCKWDLTKQRICQQV	558
LLCQOGKWDLTKQCLKLR	559
LMWFWKWDLTKQLVPTF	560
QQTWAWKWDLTKQWIGPM	561
NKELLKWDLTKQCRGRS	562
GQKDLKWDLTKQYVRQS	563
PKPCQKWDLTKQCLGSV	564
GQIGWKWDLTKQWIIQQR	565
VWLDWKWDLTKQWIHPQQ	566
QGEWEYKWDLTKQWGWLR	567
HWDSWKWDLTKQWVVOQA	568
TRPLQKWDLTKQWLRVG	569
SDQWQKWDLTKQWFDV	570
QQQTFMKWDLTKQWIRRH	571
QQGECRWDLTKQCFPGQ	572
GQQMGWRWDPLIKMCLGPS	573
QLDGCKWDLTKQKVCIP	574
HGYWQKWDLTKQWVSSE	575
HQQGQCGWDLTRIYLPCH	576
LHKACKWDLTKQCWPMQQ	577
GPPGSVWDLTKIWIQQTG	578
ITQQDWRFDLTRLWLPLR	579
QQGGFAAWDVLTKMWITVP	580
GHGTPWWDALTRIWILGV	581
VWPWQKWDLTKQFVFQD	582
WQQWSWKWDLTKROYISS	583
NQQLWKWDLTKQFITYM	584
PVYQQGWDTLTKLYIWDG	585
WLDGGWRDPLIKRSVQQLG	586
GHQQQFKWDLTKQWVQSN	587
QQRVGQFWDVLTKMFITGS	588
QQAQGSYDALIKTWIRWP	589
GWMHWKWDPLTKQQALPWM	590

GHPTYKWDLTKQWILQQM	591
WNNWSLWDPLTKLWLQQQN	592
WQWGKWDLTKQWVQQQ	593
GQMGWRWDPLTKMWLGTS	594

Además de péptidos y polipéptidos que tienen las secuencias de aminoácidos expuestas en las tablas 5-10, los polipéptidos que pueden ser útiles según la invención incluyen el polipéptido de unión a Ang-2 que tiene la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO: 612:

Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
 Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
 Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
 Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
 Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
 Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
 Pro Ser Arg Asp Glu Leu Gly Gly Gln Glu Glu Cys Glu Trp Asp Pro Trp Thr Cys
 Glu His Met Gly Gly Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
 Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
 Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu
 Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys//
 SEQ ID NO:612;

5 Y el polipéptido de unión a miostatina que tiene la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO: 613:

Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
 Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
 Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
 His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
 Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Gly Gly Leu Ala Asp
His Gly Gln Cys Ile Arg Trp Pro Trp Met Cys Pro Pro Glu Gly Trp
Glu Gly Gly Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys//SEQ ID NO: 613;

Y el polipéptido mimético de EPO que tiene la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO: 614:

Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
 Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
 Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
 His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
 Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
 Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
 Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
 Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
 Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Gly Gly Gly Gly Thr
 Tyr Ser Cys His Phe Gly Pro Leu Thr Trp Val Cys Lys Pro Gln Gly
 Gly Gly Gly Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
 Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
 Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
 Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
 Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys// SEQ ID NO: 614;

Y el polipéptido mimético de TPO que tiene la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO: 615:

Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
 Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
 Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
 His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
 Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
 Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
 Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
 Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
 Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Gly Gly Ile Glu Gly
 Pro Thr Leu Arg Gln Trp Leu Ala Ala Arg Ala Gly Gly Thr Lys Asn
 Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
 Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
 Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
 Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
 Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
 Ser Leu Ser Pro Gly Lys// SEQ ID NO: 615.

Polímeros farmacéuticamente aceptables. La invención abarca además moléculas modificadas covalentemente para que incluyan una o más uniones a polímeros solubles en agua. Los polímeros farmacéuticamente aceptables útiles según la presente invención incluyen polietilenglicol, polioxietilenglicol o polipropilenglicol, tal como se describe en las patentes estadounidenses n.ºs: 4.640.835; 4.496.689; 4.301.144; 4.670.417; 4.791.192; y 4.179.337. Todavía otros polímeros útiles conocidos en la técnica incluyen, pero no se limitan a, monometoxi-polietilenglicol, dextrano, celulosa y otros polímeros a base de hidratos de carbono (por ejemplo, hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, hidroxietilcelulosa), poli-(N-vinilpirrolidona)-polietilenglicol, homopolímeros de propilenglicol, un copolímero de óxido de polipropileno/óxido de etileno, polioles polioxietilados (por ejemplo, glicerol) poli(alcohol vinílico), poli(ácido láctico), poli(ácido glicólico), copolímeros de etilenglicol y propilenglicol, carboximetilcelulosa, dextrano, polivinilpirrolidona y poliprolina, ácido hialurónico, poli-1,3-dioxolano y poli-1,3,6-tioxocano, pectina, almidón, gelatina, así como mezclas de cualquiera de estos polímeros.

Un polímero preferido es polietilenglicol (PEG). El grupo de PEG puede ser de cualquier peso molecular conveniente y puede ser lineal o ramificado. El peso molecular promedio del PEG oscilará preferiblemente entre aproximadamente 2 kiloDalton ("kD") y aproximadamente 100 kD, más preferiblemente entre aproximadamente 5 kDa y aproximadamente 50 kDa, lo más preferiblemente entre aproximadamente 5 kD y aproximadamente 20 kD. Los grupos de PEG se unirán generalmente a los compuestos de la invención mediante acilación o alquilación reductora a través de un grupo reactivo en el resto de PEG (por ejemplo, un grupo aldehído, maleimida, amino, tiol, o éster) con un grupo reactivo en el compuesto de la invención (por ejemplo, un grupo aldehído, amino, tiol o éster).

La conjugación covalente de proteínas y péptidos con poli(etilenglicol) (PEG) sea reconocido ampliamente como un enfoque para prolongar significativamente las semividas circulantes *in vivo* de proteínas terapéuticas. La PEGilación logra este efecto predominantemente retardando el aclaramiento renal, puesto que el resto de PEG añade un radio hidrodinámico considerable a la proteína (Zalipsky, S., *et al.*, Use of functionalized poly(ethylene glycol)s for modification of polipeptides., en poly(ethylene glycol) chemistry: Biotechnical and biomedical applications., J.M. Harris, Ed., Plenum Press: Nueva York., 347-370 (1992)). Los beneficios adicionales conferidos a menudo por la

pegilación de proteínas y péptidos incluyen aumento de la solubilidad, resistencia a la degradación proteolítica y reducción de la inmunogenicidad del polipéptido terapéutico. Los méritos de la pegilación de proteínas se demuestran por la comercialización de varias proteínas pegiladas incluyendo PEG-adenosina desaminasa (Adagen™/Enzon Corp.), PEG-L-asparaginasa (Oncaspar™/Enzon Corp.), PEG-interferón α -2b (PEG-Intron™/Schering/Enzon), PEG-interferón α -2a (PEGASYS™/Roche) y PEG-G-CSF (Neulasta™/Amgen) así como muchos otros en ensayos clínicos.

En resumen, los grupos de PEG se unen generalmente a la parte de péptido de la composición de la invención mediante acilación o alquilación reductora a través de un grupo reactivo en el resto de PEG (por ejemplo, un grupo aldehído, amino, tiol o éster) con un grupo reactivo en el compuesto de la invención (por ejemplo, un grupo aldehído, amino o éster).

Una estrategia útil para la PEGilación de péptidos sintéticos consiste en combinar, a través de la formación de un enlace de conjugado en disolución, un polipéptido o péptido y un resto de PEG, llevando cada uno una funcionalidad especial que es mutuamente reactiva con la otra. Los polipéptidos o péptidos pueden prepararse fácilmente con síntesis en fase sólida convencional. Los polipéptidos o péptidos se "preactivan" con un grupo funcional apropiado en un sitio específico. Los precursores se purifican y se caracterizan completamente antes de reaccionar con el resto de PEG. La ligación del polipéptido o péptido con PEG tiene lugar habitualmente en fase acuosa y puede monitorizarse fácilmente mediante HPLC analítica en fase inversa. Los polipéptidos o péptidos PEGilados pueden purificarse fácilmente mediante HPLC preparativa y caracterizarse mediante HPLC analítica, análisis de aminoácidos y espectrometría de masas de desorción láser.

PEG es un polímero soluble en agua, bien conocido que está disponible comercialmente o puede prepararse mediante polimerización por apertura de anillo de etilenglicol según métodos bien conocidos en la técnica (Sandler y Karo, *Polymer Synthesis*, Academic Press, Nueva York, vol. 3, páginas 138-161). En la presente solicitud, el término "PEG" se usa de manera amplia para abarcar cualquier molécula de polietilenglicol, en forma mono, bi o polifuncional, independientemente del tamaño o de la modificación en un extremo del PEG, y puede representarse mediante la fórmula:



en la que n es de 20 a 2300 y X es H o una modificación terminal, por ejemplo, un alquilo C₁₋₄.

En algunas realizaciones útiles, un PEG usado en la invención termina en un extremo con hidroxilo o metoxilo, es decir, X es H o CH₃ ("metoxi-PEG"). Se indica que el otro extremo del PEG, que se muestra en la fórmula (II) que termina en OH, se une covalentemente a un resto de activación mediante un enlace éter-oxígeno, un enlace amina o un enlace amida. Cuando se usa en una estructura química, el término "PEG" incluye la fórmula (II) anterior sin el hidrógeno del grupo hidroxilo mostrado, dejando al oxígeno disponible para reaccionar con un átomo de carbono libre de un ligador para formar un enlace éter. Más específicamente, con el fin de conjugar PEG con un péptido, el péptido debe hacerse reaccionar con PEG en una forma "activada". Puede representarse PEG activado mediante la fórmula:



en la que PEG (definido anteriormente) se une covalentemente a un átomo de carbono del resto de activación (A) para formar un enlace éter, un enlace amina o enlace amida, y (A) contiene un grupo reactivo que puede reaccionar con un grupo amino, imino o tiol en un residuo de aminoácido de un polipéptido, péptido o un resto de ligador unido covalentemente a la parte de péptido.

Se conocen bien en la técnica técnicas para la preparación de PEG activado y su conjugación con péptidos biológicamente activos. (Por ejemplo, véanse las patentes estadounidenses n.ºs 5.643.575, 5.919.455, 5.932.462 y 5.990.237; Thompson *et al.*, PEGylation of polypeptides, documento EP 0575545 B1; Petit, Site specific protein modification, patentes estadounidenses n.ºs 6.451.986 y 6.548.644; S. Herman *et al.*, Poly(ethylene glycol) with reactive endgroups: I. Modification of proteins, *J. Bioactive Compatible Polymers*, 10: 145-187 (1995); Y. Lu *et al.*, Pegylated peptides III: Solid-phase synthesis with PEGylating reagents of varying molecular weight: synthesis of multiply PEGylated peptides, *Reactive Polymers*, 22:221-229 (1994); A.M. Felix *et al.*, PEGylated Peptides IV: Enhanced biological activity of site-directed PEGylated GRF analogs, *Int. J. Peptide Protein Res.*, 46:253-264 (1995); A.M. Felix, Site-specific poly(ethylene glycol)ylation of peptides, *ACS Symposium Series 680(poly(ethylene glycol))*: 218-238 (1997); Y. Ikeda *et al.*, Polyethylene glicol derivatives, their modified peptides, methods for producing them and use of the modified peptides, documento EP 0473084 B1; G.E. Means *et al.*, Selected techniques for the modification of protein side chains, en: *Chemical modification of proteins*, Holden Day, Inc., 219 (1971)).

Pueden sintetizarse químicamente PEG activados, tal como PEG-aldehídos o hidratos de PEG-aldehído, mediante medios conocidos u obtenerse de fuentes comerciales, por ejemplo, Shearwater Polymers, (Huntsville, Al) o Enzon, Inc. (Piscataway, N.J.).

Un ejemplo de un PEG activado útil para fines de la presente invención es un compuesto de PEG-aldehído (por ejemplo, un metoxi-PEG-aldehído), tal como PEG-propionaldehído, que está disponible comercialmente de

Shearwater Polymers (Huntsville, Al). Se representa PEG-propionaldehído mediante la fórmula PEG-CH₂CH₂CHO. (Véase, por ejemplo, la patente estadounidense n.º 5.252.714). Otros ejemplos de PEG activado útil son hidrato de PEG-acetaldehído e hidrato de PEG-bis-aldehído, produciendo este último una estructura activada bifuncionalmente. (Véase, por ejemplo, Bentley *et al.*, Poly(ethylene glycol) aldehyde hydrates and related polymers and applications in modifying amines, patente estadounidense n.º 5.990.237).

Otro PEG activado útil para generar los péptidos o polipéptidos conjugados con PEG de la presente invención es un compuesto de PEG-maleimida, tal como, pero sin limitarse a, una metoxi-PEG-maleimida, de manera que maleimido-monometoxi-PEG son particularmente útiles para generar los péptidos conjugados con PEG de la invención. (Por ejemplo, Shen, N-maleimidyl polymer derivatives, patente estadounidense n.º 6.602.498; C. Delgado *et al.*, The uses and properties of PEG-linked proteins., Crit. Rev. Therap. Drug Carrier Systems, 9:249-304 (1992); S. Zalipsky *et al.*, Use of functionalized poly(ethylene glycol)s for modification of polypeptides, en: Poly(ethylene glycol) chemistry: Biotechnical and biomedical applications (J.M. Harris, Editor, Plenum Press: Nueva York, 347-370 (1992); S. Herman *et al.*, Poly(ethylene glycol) with reactive endgroups: I. Modification of proteins, J. Bioactive Compatible Polymers, 10: 145-187 (1995); P.J. Shadle *et al.*, Conjugation of polymer to colony stimulating factor-1, patente estadounidense n.º 4.847.325; G. Shaw *et al.*, Cysteine added variants IL-3 and chemical modifications thereof, patente estadounidense n.º 5.166.322 y documento EP 0469074 B1; G. Shaw *et al.*, Cysteine added variants of EPO and chemical modifications thereof, documento EP 0668353 A1; G. Shaw *et al.*, Cysteine added variants G-CSF and chemical modifications thereof, documento EP 0668354 A1; N.V. Katre *et al.*, Interleukin-2 muteins and polymer conjugation thereof, patente estadounidense n.º 5.206.344; R.J. Goodson y N.V. Katre, Site-directed pyglation of recombinant interleukin-2 at its glycosylate site, Biotechnology, 8:343-346 (1990)).

Una vinilsulfona de poli(etilenglicol) es otro PEG activado útil para generar los péptidos conjugados con PEG de la presente invención mediante conjugación en residuos de aminoácido tiolados, por ejemplo, en residuos de C. (Por ejemplo, M. Morpurgo *et al.*, Preparation and characterization of poly(ethylene glycol) vinyl sulfone, Bioconj. Chem., 7:363-368 (1996); véanse también Harris, Functionalization of polyethylene glycol for formation of active sulfone-terminated PEG derivatives for binding to proteins and biologically compatible materials, patentes estadounidenses n.ºs 5.446.090; 5.739.208; 5.900.461; 6.610.281 y 6.894.025; y Harris, Water soluble active sulfones of poly(ethylene glycol), documento WO 95/13312 A1).

Otra forma activada de PEG que es útil según la presente invención es un compuesto de éster de PEG-N-hidroxisuccinimida, por ejemplo, éster metoxi-PEG-N-hidroxisuccinimidílico (NHS).

También son útiles formas activadas de manera heterobifuncional de PEG. (Véase, por ejemplo, Thompson *et al.*, PEGylation reagents and biologically active compounds formed therewith, patente estadounidense n.º 6.552.170).

Normalmente, un polipéptido o péptido de interés se hace reaccionar mediante técnicas químicas conocidas con un compuesto de PEG activado, tal como pero sin limitarse a, un compuesto de PEG activado con tiol, un compuesto de PEG activado con diol, un compuesto de PEG-hidrazida, un compuesto de PEG-oxiamina o un compuesto de PEG-bromoacetilo. (Véanse, por ejemplo, S. Herman, Poly(ethylene glycol) with Reactive Endgroups: I. Modification of Proteins, J. Bioactive and Compatible Polymers, 10: 145-187 (1995); S. Zalipsky, Chemistry of Polyethylene glycol Conjugates with Biologically Active Molecules, Advanced Drug Delivery Reviews, 16: 157-182 (1995); R. Greenwald *et al.*, Poly(ethylene glycol) conjugated drugs and prodrugs: a comprehensive review, Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 17:101-161 (2000)).

Los polímeros de polisacáridos son otro tipo de polímero soluble en agua que puede usarse para la modificación de proteínas. Los dextranos son polímeros de polisacáridos compuestos por subunidades individuales de glucosa unidas predominantemente mediante enlaces α 1-6. El propio dextrano está disponible en muchos intervalos de peso molecular, y está fácilmente disponible en pesos moleculares de desde aproximadamente 1 kD hasta aproximadamente 70 kD. El dextrano es un polímero soluble en agua adecuado para su uso en la presente invención por sí mismo o en combinación con un resto funcional adicional diferente (por ejemplo, Fc). Véanse, por ejemplo, los documentos WO 96/11953 y WO 96/05309. El uso de dextrano conjugado a inmunoglobulinas de diagnóstico o terapéuticas se ha notificado; véase, por ejemplo, la publicación de patente europea n.º 0 315 456. Se prefiere dextrano de aproximadamente 1 kD a aproximadamente 20 kD cuando se usa dextrano según la presente invención.

Ligadores. Cualquier grupo "ligador" es opcional. Cuando está presente, su estructura química no es crítica, puesto que sirve principalmente como espaciador, que puede ser útil en la optimización de la actividad farmacológica de algunas realizaciones de la composición de la invención. El ligador está constituido preferiblemente por aminoácidos unidos entre sí mediante enlaces peptídicos. Tal como se estableció anteriormente en el presente documento, el resto de ligador, si está presente, puede ser independientemente igual o diferente de cualquier otro ligador, o ligadores, que puedan estar presentes en la composición de la invención. Por ejemplo, un "(L)_c" puede representar el mismo resto de ligador que, o un resto de ligador diferente de, cualquier otro "(L)_c" o cualquier "(L)_d", "(L)_e" o "(L)_f", según la invención. El ligador está constituido preferiblemente por aminoácidos unidos entre sí por enlaces peptídicos. Por tanto, en algunas realizaciones, el ligador está constituido por de desde 1 hasta aproximadamente 30 aminoácidos unidos mediante enlaces peptídicos, en el que los aminoácidos se seleccionan de los 20 aminoácidos que se producen de manera natural. Algunos de estos aminoácidos pueden glicosilarse, tal como entienden bien los

expertos en la técnica. Por ejemplo, una secuencia de ligador útil que constituye un sitio de sialilación es $X_1X_2NX_4X_5G$ (SEQ ID NO: 619), en la que X_1 , X_2 , X_4 y X_5 son cada uno independientemente cualquier residuo de aminoácido.

5 En una realización más preferida, los de 1 a 30 aminoácidos se seleccionan de glicina, alanina, prolina, asparagina, glutamina y lisina. Incluso más preferiblemente, un ligador está constituido por una mayoría de aminoácidos que no están impedidos estéricamente, tales como glicina y alanina. Por tanto, los ligadores preferidos incluyen poliglicinas (particularmente $(Gly)_4$, $(Gly)_5$, poli(Gly-Ala) y polialaninas. Otros ligadores preferidos son los identificados en el presente documento como "L5" (GGGGS; SEQ ID NO: 620), "L10" (GGGGSGGGGS; SEQ ID NO: 621), "L25" GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS; SEQ ID NO: 622) y cualquier ligador usado en los ejemplos de trabajo a
10 continuación en el presente documento. Los ligadores descritos en el presente documento, sin embargo, son a modo de ejemplo; los ligadores dentro del alcance de esta invención pueden ser mucho más largos y pueden incluir otros residuos. Por tanto, ligadores preferidos son poliglicinas (particularmente $(Gly)_4$, $(Gly)_5$, poli(Gly-Ala) y polialaninas. Otros ejemplos específicos de ligadores son:

$(Gly)_3Lys(Gly)_4$ (SEQ ID NO: 595);

15 $(Gly)_3AsnGlySer(Gly)_2$ (SEQ ID NO: 596);

$(Gly)_3Cys(Gly)_4$ (SEQ ID NO: 597); y

GlyProAsnGlyGly (SEQ ID NO: 598).

20 Para explicar la nomenclatura anterior, por ejemplo, $(Gly)_3Lys(Gly)_4$ significa Gly-Gly-Gly-Lys-Gly-Gly-Gly-Gly. También se prefieren combinaciones de Gly y Ala. Los ligadores mostrados en este caso son a modo de ejemplo; los ligadores dentro del alcance de esta invención pueden ser mucho más largos y pueden incluir otros residuos.

En algunas realizaciones de las composiciones de esta invención, que comprenden un resto de ligador peptídico (L), se colocan residuos ácidos, por ejemplo, residuos de glutamato o aspartato, en la secuencia de aminoácidos del resto de ligador (L). Los ejemplos incluyen las siguientes secuencias de ligador peptídico:

GGEGGG (SEQ ID NO: 623);

25 GGEEGGG (SEQ ID NO: 624);

GEEEG (SEQ ID NO: 625);

GEEE (SEQ ID NO: 626);

GGDGGG (SEQ ID NO: 627);

GGDDGG (SEQ ID NO: 628);

30 GDDDG (SEQ ID NO: 629);

GDDD (SEQ ID NO: 630);

GGGGSDDSDEGS DGEDGGGGS (SEQ ID NO: 631);

WEWEW (SEQ ID NO: 632);

FEFEF (SEQ ID NO: 633);

35 EEEWWW (SEQ ID NO: 634);

EEEEFF (SEQ ID NO: 635);

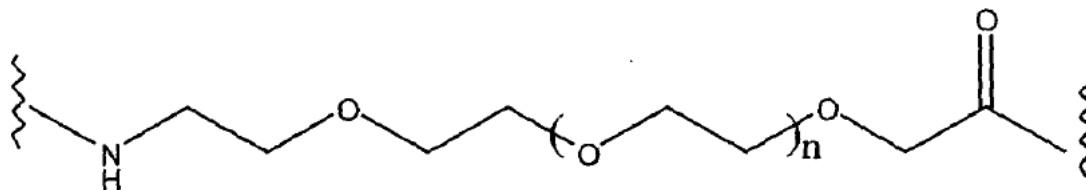
WWEWWW (SEQ ID NO: 636); o

FFEEFF (SEQ ID NO: 637).

40 En otras realizaciones, el ligador constituye un sitio de fosforilación, por ejemplo, $X_1X_2YX_3X_4G$ (SEQ ID NO: 638), en el que X_1 , X_2 , X_3 y X_4 son cada uno independientemente cualquier residuo de aminoácido; $X_1X_2SX_3X_4G$ (SEQ ID NO: 639), en el que X_1 , X_2 , X_3 y X_4 son cada uno independientemente cualquier residuo de aminoácido; o $X_1X_2TX_3X_4G$ (SEQ ID NO: 640), en el que X_1 , X_2 , X_3 y X_4 son cada uno independientemente cualquier residuo de aminoácido.

45 También son posibles ligadores no peptídicos. Por ejemplo, podrían usarse ligadores de alquilo tales como $-NH-(CH_2)_s-C(O)-$, en los que $s = 2-20$. Estos ligadores de alquilo pueden estar sustituidos adicionalmente con cualquier grupo no impedido estéricamente tal como alquilo inferior (por ejemplo, C_1-C_6), acilo inferior, halógeno (por ejemplo, Cl, Br), CN, NH_2 , fenilo, etc. Un ligador no peptídico a modo de ejemplo es un ligador de PEG,

(XXXI)



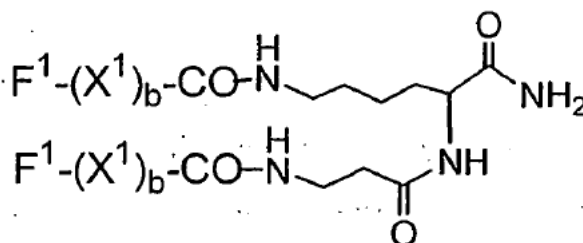
en el que n es tal que el ligador tiene un peso molecular de 100 a 5000 kD, preferiblemente de 100 a 500 kD. Los ligadores peptídicos pueden alterarse para formar derivados de la misma manera que se describió anteriormente.

- 5 Derivados. Las composiciones de materia de la presente invención también abarcan "derivados" que incluyen partes de péptidos o polipéptidos que llevan modificaciones distintas de, o además de, inserciones, deleciones o sustituciones de residuos de aminoácido. Preferiblemente, las sustituciones son de naturaleza covalente, e incluyen por ejemplo enlaces químicos con polímeros, lípidos, otros restos orgánicos e inorgánicos. Pueden prepararse derivados de la invención para aumentar la semivida circulante de una molécula; para mejorar la capacidad de
10 direccionamiento para la molécula a células, tejidos u órganos deseados; para mejorar la solubilidad o absorción de una molécula; o para eliminar o atenuar cualquier efecto secundario no deseado de una molécula.

Los derivados a modo de ejemplo incluyen compuestos en los que:

- 15 1. El compuesto o alguna parte del mismo es cíclico. Por ejemplo, la parte de péptido puede modificarse para que contenga dos o más residuos de Cys (por ejemplo, en el ligador), que podrían ciclarse mediante formación de enlaces disulfuro.
2. El compuesto se reticula o se hace que pueda reticularse entre moléculas. Por ejemplo, la parte de péptido puede modificarse para que contenga un residuo de Cys y de ese modo pueda formar un enlace disulfuro intermolecular con una molécula similar. El compuesto puede reticularse también a través de su extremo C-terminal, como en la molécula mostrada a continuación.

20 (XXXII)



- 25 3. Se reemplazan una o más uniones (enlaces) peptídicos [-C(O)NR-] por una unión no peptídica. Uniones no peptídicas a modo de ejemplo son -CH₂-carbamato [-CH₂-OC(O)NR-], fosfonato, -CH₂-sulfonamida [-CH₂-S(O)₂NR-], urea [-NHC(O)NH-], -CH₂-amina secundaria y péptido alquilado [-C(O)NR⁶- en el que R⁶ es alquilo inferior].
- 30 4. El extremo N-terminal se derivatiza. Normalmente, el extremo N-terminal puede acilarse o modificarse para dar una amina sustituida. Los grupos de derivados N-terminales a modo de ejemplo incluyen -NRR¹ (distinto de -NH₂), -NRC(O)R¹, -NRC(O)OR¹, -NRS(O)₂R¹, -NHC(O)NHR¹, succinimida o benciloxicarbonil-NH-(CBZ-NH-), en los que R y R¹ son cada uno independientemente hidrógeno o alquilo inferior y en los que el anillo de fenilo puede estar sustituido con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en alquilo C₁-C₄, alcoxilo C₁-C₄, cloro y bromo.
- 35 5. El extremo C-terminal libre se derivatiza. Normalmente, el extremo C-terminal se esterifica o se amida. Por ejemplo, pueden usarse métodos descritos en la técnica para añadir (NH-CH₂-CH₂-NH₂)₂ a compuestos de esta invención. Asimismo, pueden usarse métodos descritos en la técnica para añadir -NH₂ a compuestos de esta invención. Los grupos de derivados C-terminales a modo de ejemplo incluyen, por ejemplo, -C(O)R² en el que R² es alcoxilo inferior o -NR³R⁴ en el que R³ y R⁴ son independientemente hidrógeno o alquilo C₁-C₈ (preferiblemente alquilo C₁-C₄).
- 40 6. Se reemplaza un enlace disulfuro por otro resto de reticulación, preferiblemente más estable (por ejemplo, un alquilenos). Véanse, por ejemplo, Bhatnagar *et al.* (1996), J. Med. Chem. 39: 3814-9; Alberts *et al.* (1993) Thirteenth Am. Pep. Symp. 357-9.

7. Se modifican uno o más residuos de aminoácido individuales. Se sabe que diversos agentes de derivatización reaccionan específicamente con residuos terminales o cadenas laterales seleccionadas, tal como se describe en detalle a continuación.

5 Pueden hacerse reaccionar residuos de lisinilo y residuos amino terminales con ácido succínico u otros anhídridos de ácidos carboxílicos que invierten la carga de los residuos de lisinilo. Otros reactivos adecuados para derivatizar residuos que contienen alfa-amino incluyen imidoésteres tales como picolinimidato de metilo; piridoxal fosfato; piridoxal; cloroborohidruro; ácido trinitrobencenosulfónico; O-metilisourea; 2,4-pentanodiona; y reacción catalizada por transaminasas con glioxilato.

10 Pueden modificarse residuos de arginilo mediante reacción con uno cualquiera o una combinación de varios reactivos convencionales, incluyendo fenilglioxal, 2,3-butanodiona, 1,2-ciclohexanodiona y ninhidrina. La derivatización de residuos de arginilo requiere que la reacción se realice en condiciones alcalinas debido al alto pKa del grupo funcional guanidina. Además, estos reactivos pueden reaccionar con los grupos de la lisina así como el grupo épsilon-amino de la arginina.

15 Se ha estudiado de manera extensa la modificación específica de residuos de tirosilo, con particular interés en la introducción de marcadores espectrales en residuos de tirosilo mediante reacción con compuestos de diazonio aromáticos o tetranitrometano. Lo más comúnmente, se usan N-acetilimidazol y tetranitrometano para formar especies de O-acetiltirosilo y derivados de 3-nitro, respectivamente.

20 Pueden modificarse selectivamente grupos de cadena lateral de carboxilo (aspartilo o glutamilo) mediante reacción con carbodiimidas ($R'-N=C=N-R'$) tales como 1-ciclohexil-3-(2-morfolinil-(4-etil)carbodiimida o 1-etil-3-(4-azonio-4,4-dimetilpentil)carbodiimida. Además, pueden convertirse residuos de aspartilo y glutamilo en residuos de asparaginilo y glutaminilo mediante reacción con iones amonio.

Pueden desamidarse residuos de glutaminilo y asparaginilo para dar los residuos de glutamilo y aspartilo correspondientes. Alternativamente, estos residuos se desamidán en condiciones ligeramente ácidas. Cualquier forma de estos residuos se encuentra dentro del alcance de esta invención.

25 Pueden reemplazarse residuos de cisteinilo por residuos de aminoácido u otros restos o bien para eliminar enlaces disulfuro o bien, a la inversa, para estabilizar la reticulación. Véase, por ejemplo, Bhatnagar *et al.* (1996), *J. Med. Chem.* 39: 3814-9.

30 La derivatización con agentes bifuncionales es útil para reticular los péptidos o sus derivados funcionales con una matriz de soporte insoluble en agua o con otros vehículos macromoleculares. Los agentes de reticulación comúnmente usados incluyen, por ejemplo, 1,1-bis(diazoacetil)-2-feniletano, glutaraldehído, ésteres de N-hidroxisuccinimida, por ejemplo, ésteres con ácido 4-azidosalicílico, imidoésteres homobifuncionales, incluyendo ésteres disuccinimidílicos tales como 3,3'-ditiobis(succinimidilpropionato), y maleimidias bifuncionales tales como bis-N-maleimido-1,8-octano. Agentes de derivatización tales como 3-[[p-azidofenil]ditio]propioimidato de metilo producen compuestos intermedios fotoactivables que pueden formar reticulaciones en presencia de luz. Alternativamente, se emplean matrices insolubles en agua reactivas tales como hidratos de carbono activados por bromuro de cianógeno y los sustratos reactivos descritos en las patentes estadounidenses n.ºs 3.969.287; 3.691.016; 4.195.128; 4.247.642; 4.229.537; y 4.330.440 para la inmovilización de proteínas.

40 Pueden unirse convenientemente grupos de hidratos de carbono (oligosacáridos) a sitios que se sabe que son sitios de glicosilación en proteínas. Generalmente, oligosacáridos con enlaces a O se unen a residuos de serina (Ser) o treonina (Thr) mientras que oligosacáridos con enlaces a N se unen a residuos de asparagina (Asn) cuando son parte de la secuencia Asn-X-Ser/Thr, en la que X puede ser cualquier aminoácido excepto prolina. X es preferiblemente uno de los 19 aminoácidos que se producen de manera natural distintos de prolina. Las estructuras de los oligosacáridos con enlaces a N y con enlaces a O y los residuos de azúcar encontrados en cada tipo son diferentes. Un tipo de azúcar que se encuentra comúnmente en ambos es ácido N-acetilneuramínico (denominado ácido siálico). El ácido siálico es habitualmente el residuo terminal de oligosacáridos tanto con enlaces a N como con enlaces a O y, en virtud de su carga negativa, puede conferir propiedades ácidas al compuesto glicosilado. Tal(es) sitio(s) puede(n) incorporarse en el ligador de los compuestos de esta invención y se glicosilan preferiblemente por una célula durante la producción recombinante de los compuestos de polipéptido (por ejemplo, en células de mamífero tales como CHO, BHK, COS). Sin embargo, tales sitios pueden glicosilarse adicionalmente mediante procedimientos sintéticos o semisintéticos conocidos en la técnica.

50 Otras posibles modificaciones incluyen hidroxilación de prolina y lisina, fosforilación de grupos hidroxilo de residuos de serilo o treonilo, oxidación del átomo de azufre en Cys, metilación de los grupos alfa-amino de cadenas laterales de lisina, arginina e histidina. Creighton, *Proteins: Structure and Molecule Properties* (W. H. Freeman & Co., San Francisco), págs. 79-86 (1983).

55 Tales restos derivatizados mejoran preferiblemente una o más características incluyendo la actividad anti-angiogénica, la solubilidad, la absorción, la semivida biológica y similares de los compuestos. Alternativamente, los restos derivatizados pueden dar como resultado compuestos que tienen las mismas, o esencialmente las mismas características y/o propiedades del compuesto que no está derivatizado. Los restos pueden eliminar o atenuar

alternativamente cualquier efecto secundario de los compuestos y similares.

Los compuestos de la presente invención pueden cambiarse al nivel del ADN, también. La secuencia de ADN que codifica para cualquier parte del compuesto puede cambiarse a codones más compatibles con la célula huésped elegida. Para *E. coli*, que es la célula huésped preferida, se conocen en la técnica codones optimizados. Pueden sustituirse codones para eliminar sitios de restricción o para incluir sitios de restricción silenciosos, que pueden ayudar en el procesamiento del ADN en la célula huésped seleccionada. El vehículo, el ligador y las secuencias de ADN del péptido pueden modificarse para que incluyan cualquiera de los cambios de secuencia anteriores.

Derivados conjugados con toxinas e isótopos. Otro conjunto de derivados útiles son las moléculas descritas anteriormente conjugadas con toxinas, trazadores o radioisótopos. Tal conjugación es especialmente útil para moléculas que comprenden secuencias de péptidos que se unen a células tumorales o patógenos. Tales moléculas pueden usarse como agentes terapéuticos o como ayuda para la cirugía (por ejemplo, cirugía radioinmunoguiada o RIGS) o como agentes de diagnóstico (por ejemplo, radioinmunodiagnóstico o RID).

Como agentes terapéuticos, estos derivados conjugados poseen varias ventajas. Facilitan el uso de toxinas y radioisótopos que serían tóxicos si se administrasen sin la unión específica proporcionada por la secuencia de péptido. También pueden reducir los efectos secundarios que comporta el uso de radiación o quimioterapia facilitando dosis eficaces inferiores de la pareja de conjugación.

Las parejas de conjugación útiles incluyen:

- radioisótopos, tales como ⁹⁰Itrio, ¹³¹Yodo, ²²⁵Actinio y ²¹³Bismuto;
- toxina ricina A, toxinas derivadas de microbios tales como endotoxina de *Pseudomonas* (por ejemplo, PE38, PE40), y similares;
- moléculas de pareja en sistemas de captura (véase a continuación);
- biotina, streptavidina (útiles o bien como moléculas de pareja en sistemas de captura o bien como trazadores, especialmente para uso de diagnóstico); y
- agentes citotóxicos (por ejemplo, doxorubicina).

Una adaptación útil de estos derivados conjugados es su uso en un sistema de captura. En un sistema de este tipo, la molécula de la presente invención comprendería una molécula de captura benigna. Esta molécula de captura podría unirse específicamente a una molécula efectora separada que comprende, por ejemplo, una toxina o un radioisótopo. Tanto la molécula conjugada con vehículo como la molécula efectora se administrarían al paciente. En un sistema de este tipo, la molécula efectora tendría una semivida corta excepto cuando se une a la molécula de captura conjugada con vehículo, minimizando por tanto cualquier efecto secundario tóxico. La molécula conjugada con vehículo tendría una semivida relativamente larga pero sería benigna y no tóxica. Las partes de unión específicas de ambas moléculas pueden ser parte de un par de unión específico conocido (por ejemplo, biotina, estreptavidina) o pueden resultar de métodos de generación de péptidos tales como los descritos en el presente documento.

Tales derivados conjugados pueden prepararse mediante métodos conocidos en la técnica. En el caso de moléculas efectoras de proteína (por ejemplo, endotoxina de *Pseudomonas*), tales moléculas pueden expresarse como proteínas de fusión a partir de construcciones de ADN correlativas. Pueden prepararse derivados conjugados con radioisótopos, por ejemplo, tal como se describe para el anticuerpo BEXA (Coulter). Pueden prepararse derivados que comprenden agentes citotóxicos o toxinas microbianas, por ejemplo, tal como se describe para el anticuerpo BR96 (Bristol-Myers Squibb). Pueden prepararse moléculas empleadas en sistemas de captura, por ejemplo, tal como se describe por las patentes, solicitudes de patente y publicaciones de NeoRx. Pueden prepararse moléculas empleadas para RIGS y RID, por ejemplo, mediante las patentes, solicitudes de patente y publicaciones de NeoProbe.

Puede ser útil preparar un derivado de péptido para su conjugación con un dominio Fc según la presente invención. Las células tumorales, por ejemplo, presentan epítomos no encontrados en sus homólogos normales. Tales epítomos incluyen, por ejemplo, modificaciones postraduccionales diferentes que resultan de su rápida proliferación. Por tanto, se describe en el presente documento un procedimiento que comprende:

- a) seleccionar al menos un péptido aleatorizado que se une específicamente a un epítomo diana; y
- b) preparar un agente farmacológico que comprende (i) al menos un monómero de dominio Fc, (ii) al menos una secuencia de aminoácidos del péptido o péptidos seleccionados, y (iii) una molécula efectora.

El epítomo diana es preferiblemente un epítomo específico de tumor o un epítomo específico para un organismo patógeno. La molécula efectora puede ser cualquiera de las parejas de conjugación indicadas anteriormente y es preferiblemente un radioisótopo.

Variantes. Variantes de partes del polipéptido o péptido de la composición de materia de la invención por ejemplo, partes de dominio Fc, ligador o resto funcional adicional), también se incluyen dentro del alcance de la presente invención. Dentro de las variantes se incluyen variantes de inserción, delección y sustitución. Se entiende que una molécula particular de la presente invención puede contener uno, dos o los tres tipos de polipéptidos o péptidos variantes. Las variantes de inserción y sustitución pueden contener aminoácidos canónicos, aminoácidos no canónicos (tal como se explica en el presente documento), o ambos. También se entiende que, según la presente invención, las variantes de polipéptido o péptido pueden obtenerse antes de la conjugación química con un dominio Fc o pueden diseñarse para que se expresen como parte de una proteína de fusión con el dominio Fc, según se desee en diversas realizaciones de la composición de materia de la invención.

En un ejemplo, se proporcionan variantes de inserción en las que uno o más residuos de aminoácidos, o bien aminoácidos que se producen de manera natural o bien no convencionales, complementan una secuencia de aminoácidos de péptido o polipéptido. Las inserciones pueden ubicarse en cualquiera o en ambos extremos terminales, o pueden situarse dentro de regiones internas de la secuencia de aminoácidos. Las variantes de inserción con residuos adicionales en cualquiera o ambos extremos terminales pueden incluir, por ejemplo, proteínas de fusión y proteínas que incluyen etiquetas o marcadores de aminoácidos. Las variantes de inserción incluyen péptidos y peptidocuerpos en los que se añaden uno o más residuos de aminoácidos a la secuencia de aminoácidos del péptido o polipéptido, o fragmento de la misma.

Las variantes de la invención también incluyen péptidos y polipéptidos maduros en los que se eliminan las secuencias líder o señal, y las proteínas resultantes que tienen residuos amino terminales adicionales, pudiendo ser los aminoácidos naturales o no naturales. Se contemplan moléculas de esta invención (tales como peptidocuerpos) con un residuo de metionilo adicional en la posición de aminoácido -1 (Met⁻¹-peptidocuerpo), puesto que son agentes de unión específicos con residuos de metionina y lisina adicionales en las posiciones -2 y -1 (Met⁻²-Lys⁻¹) conjugados con el dominio Fc como restos adicionales según la invención. Las variantes que tienen residuos de Met, Met-Lys, Lys adicionales (o uno o más residuos básicos, en general) son particularmente útiles para la producción de proteínas recombinantes en células huésped bacterianas.

La invención también abarca variantes que tienen residuos de aminoácidos adicionales que surgen del uso de sistemas de expresión específicos. Por ejemplo, el uso de vectores comercialmente disponibles que expresan un polipéptido deseado como parte del producto de fusión de glutatión-S-transferasa (GST) proporciona el polipéptido deseado que tiene un residuo de glicina adicional en la posición de aminoácido -1 tras la escisión del componente de GST del polipéptido deseado. También se contemplan variantes que resultan de la expresión en otros sistemas de vector, incluyendo aquellas en las que se incorporan colas de poli-histidina en la secuencia de aminoácidos, generalmente en el extremo carboxilo y/o amino terminal de la secuencia.

Las variantes de inserción también incluyen proteínas de fusión en las que los extremos amino y/o carboxilo terminales del péptido o peptidocuerpo se fusionan a otro polipéptido, a fragmento del mismo o a aminoácidos que generalmente no se reconoce que sean parte de ninguna secuencia proteica específica. Ejemplos de tales proteínas de fusión son polipéptidos inmunogénicos, proteínas con semividas de circulación largas, tales como regiones constantes de inmunoglobulina, proteínas marcadoras, proteínas o polipéptidos que facilitan la purificación del péptido o peptidocuerpo deseado, y secuencias polipeptídicas que potencian la formación de proteínas multiméricas (tales como motivos de cremallera de leucina que son útiles en la formación de dímeros/estabilidad).

Este tipo de variante de inserción generalmente tiene toda o una parte sustancial de la molécula nativa, unida en el extremo N- o C-terminal, a todo o a una parte de un segundo polipéptido. Por ejemplo, las proteínas de fusión normalmente emplean secuencias líder de otras especies para permitir la expresión recombinante de una proteína en un huésped heterólogo. Otra proteína de fusión útil incluye la adición de un dominio inmunológicamente activo, tal como un epítipo de anticuerpo, para facilitar la purificación de la proteína de fusión. La inclusión de un sitio de escisión en o cerca de una unión por fusión facilitará la eliminación del polipéptido extraño tras la purificación. Otras fusiones útiles incluyen la unión de dominios funcionales, tales como sitios activos de enzimas, dominios de glicosilación, señales de direccionamiento celular o regiones transmembrana.

Existen diversos sistemas de expresión de proteínas de fusión comercialmente disponibles que pueden usarse en la presente invención. Sistemas particularmente útiles incluyen, pero no se limitan a, el sistema de glutatión-S-transferasa (GST) (Pharmacia), el sistema de proteína de unión a maltosa (NEB, Beverley, MA), el sistema FLAG (IBI, New Haven, CT) y el sistema 6xHis (Qiagen, Chatsworth, CA). Estos sistemas pueden producir péptidos y/o peptidocuerpos recombinantes que portan sólo un pequeño número de aminoácidos adicionales, que es poco probable que afecten significativamente a la actividad del péptido o peptidocuerpo. Por ejemplo, tanto el sistema FLAG como el sistema 6xHis sólo añaden secuencias cortas, conociéndose que ambos son escasamente antigénicos y que no afectan adversamente al plegamiento de un polipéptido en su conformación nativa. Otra fusión N-terminal que se contempla que es útil es la fusión de un dipéptido Met-Lys en la región N-terminal de la proteína o péptidos. Una fusión de este tipo puede producir un aumento beneficioso en la expresión o actividad de la proteína.

Otros sistemas de fusión producen híbridos polipeptídicos en los que es deseable eliminar la pareja de fusión del péptido o peptidocuerpo deseado. En una realización, la pareja de fusión se une al peptidocuerpo recombinante mediante una secuencia peptídica que contiene una secuencia de reconocimiento específica para una proteasa.

Ejemplos de secuencias adecuadas son las reconocidas por la proteasa del virus del grabado del tabaco (Life Technologies, Gaithersburg, MD) o Factor Xa (New England Biolabs, Beverley, MA).

5 En algunas realizaciones de la composición de materia de la invención, los polipéptidos de fusión comprenden toda o parte de la molécula, en combinación con factor tisular truncado (tTF). El tTF es un agente de direccionamiento vascular que consiste en una forma truncada de una proteína de inducción de coagulación humana que actúa como un agente de coagulación de vaso sanguíneo de tumor, tal como se describe en las patentes estadounidenses n.^{os}: 5.877.289; 6.004.555; 6.132.729; 6.132.730; 6.156.321; y en la patente europea n.^o EP 0988056. La fusión de tTF con el péptido o pepticuerpo anti-Ang-2, o fragmentos del mismo facilita el suministro de anti-Ang-2 a células diana.

10 En algunas realizaciones de la presente invención, pueden ser útiles las variantes de delección, en las que se eliminan uno o más residuos de aminoácidos en una parte de péptido o polipéptido de la composición de materia. Las delecciones pueden efectuarse en uno o ambos extremos terminales de la parte de polipéptido o péptido, o a partir de la eliminación de uno o más residuos no terminales dentro de la secuencia de aminoácidos. Las variantes de delección incluyen necesariamente todos los fragmentos de una parte de péptido o polipéptido de la composición de materia de la invención.

15 En otras realizaciones de la presente invención, pueden ser útiles las variantes de sustitución. Las variantes de sustitución incluyen aquellas partes de péptidos y polipéptido en las que se eliminan uno o más residuos de aminoácidos y se sustituyen con uno o más aminoácidos alternativos, aminoácidos que pueden producirse de manera natural o que pueden producirse de manera no natural. Las variantes de sustitución generan péptidos o polipéptidos que son "similares" al péptido o polipéptido original, porque los dos tienen secuencias con un determinado porcentaje de aminoácidos que son idénticos. Las variantes de sustitución incluyen sustituciones de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, aminoácidos dentro de un péptido o pepticuerpo, en las que el número de sustituciones puede ser de hasta el diez por ciento o más, de los aminoácidos del péptido o pepticuerpo. Las sustituciones pueden ser de naturaleza conservativa, sin embargo, la invención abarca sustituciones que son también no conservativas y que incluyen también aminoácidos no canónicos.

25 La identidad y similitud de los péptidos y pepticuerpos relacionados puede calcularse fácilmente mediante métodos conocidos. Tales métodos incluyen, pero no se limitan a, los descritos en *Computational Molecular Biology*. Lesk, A.M., ed., Oxford University Press, Nueva York (1988); *Biocomputing: Informatics and Genome Projects*, Smith, D. W., ed., Academic Press, Nueva York (1993); *Computer Analysis of Secuencia Data, Parte 1*. Griffin, A.M., y Griffin, H.G., eds., Humana Press, Nueva Jersey (1994); *Secuencia Analysis in Molecular Biology*, von Heinje, G., Academic Press (1987); *Secuencia Analysis Primer*, Gribskov, M. y Devereux, J., eds., M. Stockton Press, Nueva York (1991); y Carillo *et al.*, *SIAM J. Applied Math.*, 48:1073 (1988).

30 Se diseñan métodos preferidos para determinar la relación o identidad en porcentaje de dos péptidos o polipéptidos, o un polipéptido y un péptido, para obtener el mayor apareamiento entre las secuencias sometidas a prueba. Se describen métodos para determinar la identidad en programas informáticos disponibles públicamente. Los métodos mediante programa informático preferidos para determinar la identidad entre dos secuencias incluyen, pero no se limitan a, el paquete de software GCG, incluyendo GAP (Devereux *et al.*, *Nucl. Acid. Res.*, 12:387 (1984); Genetics Computer Group, Universidad de Wisconsin, Madison, WI, BLASTP, BLASTN y FASTA (Altschul *et al.*, *J. Mol. Biol.*, 215:403-410 (1990)). El programa BLASTX está disponible públicamente del National Center for Biotechnology Information (NCBI) y otras fuentes (BLAST Manual, Altschul *et al.* NCB/NLM/NIH Bethesda, MD 20894; Altschul *et al.*, citado anteriormente (1990)). El algoritmo de Smith Waterman bien conocido también puede usarse para determinar la identidad.

35 Determinados esquemas de alineación para alinear dos secuencias de aminoácidos pueden dar como consecuencia el apareamiento de sólo una región corta de las dos secuencias, y esta pequeña región alineada puede tener una identidad de secuencia muy alta aun cuando no hay relación significativa entre las dos secuencias de longitud completa. Por consiguiente, en determinadas realizaciones, el método de alineación seleccionado (programa GAP) dará como resultado una alineación que abarca al menos el diez por ciento de la longitud completa del polipéptido diana que está comparándose, es decir, al menos 40 aminoácidos contiguos en los que se están comparando las secuencias de al menos 400 aminoácidos, 30 aminoácidos contiguos en los que se están comparando las secuencias de al menos 300 a aproximadamente 400 aminoácidos, al menos 20 aminoácidos contiguos en los que se están comparando las secuencias de 200 a aproximadamente 300 aminoácidos, y al menos 10 aminoácidos contiguos en los que se están comparando las secuencias de aproximadamente 100 a 200 aminoácidos.

45 Por ejemplo, usando el algoritmo informático GAP (Genetics Computer Group, Universidad de Wisconsin, Madison, WI), se alinean dos polipéptidos para los que ha de determinarse la identidad de secuencia en porcentaje para el apareamiento óptimo de sus aminoácidos respectivos (el "rango de apareamientos", tal como se determina mediante el algoritmo). En determinadas realizaciones, una penalización por apertura de hueco (que normalmente se calcula como 3X la diagonal promedio; la "diagonal promedio" es el promedio de la diagonal de la matriz de comparación que está usándose; la "diagonal" es la puntuación o número asignado a cada apareamiento de aminoácidos perfecta mediante la matriz de comparación particular) y una penalización por extensión de hueco (que es habitualmente 1/10 veces la penalización por apertura de hueco), así como una matriz de comparación tal como PAM 250 o BLOSUM 62 se usan conjuntamente con el algoritmo. En determinadas realizaciones, también puede usarse una matriz de

comparación convencional en el algoritmo, véase Dayhoff *et al.*, Atlas of Protein Sequence and Structure, 5(3)(1978) para la matriz de comparación PAM 250; y Henikoff *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci USA. 89:10915-10919 (1992) para la matriz de comparación BLOSUM 62.

5 En determinadas realizaciones, los parámetros para una comparación de secuencias de polipéptido incluyen los siguientes:

Algoritmo: Needleman *et al.*, J. Mol. Biol., 48:443-453 (1970);

Matriz de comparación: BLOSUM 62 de Henikoff *et al.*, citado anteriormente (1992);

Penalización de hueco: 12

Penalización por longitud de hueco: 4

10 Umbral de similitud: 0

El programa GAP puede ser útil con los parámetros anteriores. En determinadas realizaciones, los parámetros mencionados anteriormente son los parámetros por defecto para comparaciones de polipéptidos (junto con ausencia de penalización para huecos de extremo) usando el algoritmo GAP.

15 En determinadas realizaciones, los parámetros para comparaciones de secuencias de molécula de polinucleótido (en contraposición a una secuencia de aminoácidos) incluyen los siguientes:

Algoritmo: Needleman *et al.*, citado anteriormente (1970);

Matriz de comparación: apareamientos = +10, apareamientos erróneos = 0

Penalización de hueco: 50

Penalización por longitud de hueco: 3

20 El programa GAP también puede ser útil con los parámetros anteriores. Los parámetros mencionados anteriormente son los parámetros por defecto para comparaciones de moléculas de polinucleótido.

25 Pueden usarse otros algoritmos, penalizaciones por apertura de hueco, penalizaciones por extensión de hueco, matrices de comparación, umbrales de similitud, etc., a modo de ejemplo, incluyendo los explicados en el Manual del Programa, Paquete Wisconsin, versión 9, septiembre de 1997. Las elecciones particulares que han de realizarse resultarán evidentes para los expertos en la técnica y dependerán de la comparación específica que ha de realizarse, tal como ADN con ADN, proteína con proteína, proteína con ADN; y adicionalmente, si la comparación es entre pares de secuencias dadas (en cuyo caso se prefiere generalmente GAP o BestFit) o entre una secuencia y una gran base de datos de secuencias (en cuyo caso se prefiere FASTA o BLASTA).

30 Se apreciará que los residuos de aminoácidos pueden dividirse en clases basándose en sus propiedades de cadena lateral comunes:

1. Hidrófobos neutros: alanina (Ala; A), valina (Val; V), leucina (Leu; L), isoleucina (Ile; I), prolina (Pro; P), triptófano (Trp; W), fenilalanina (Phe; F) y metionina (Met, M).

2. Polares neutros: glicina (Gly; G); serina (Ser; S), treonina (Thr; T), tirosina (Tyr; Y), cisteína (Cys; C), glutamina (Glu; Q), asparagina (Asn; N) y norleucina.

35 3. Ácidos: ácido aspártico (Asp; D), ácido glutámico (Glu; E);

4. Básicos: Lisina (Lys; K), arginina (Arg; R), histidina (His; H).

Véase Lewin, B., Genes V. Oxford University Press (1994), pág.11.

40 Las sustituciones conservativas de aminoácidos pueden abarcar residuos de aminoácidos no convencionales, que se incorporan normalmente mediante síntesis química de péptidos en lugar de mediante síntesis en sistemas biológicos. Estos incluyen, sin limitación, peptidomiméticos y otras formas revertidas o invertidas de restos de aminoácidos. Las sustituciones no conservativas pueden implicar el intercambio de un miembro de una de estas clases por un miembro de otra clase.

45 Cuando se realizan tales cambios, según determinadas realizaciones, puede considerarse el índice hidropático de los aminoácidos. A cada aminoácido se le ha asignado un índice hidropático partiendo de la base de sus características de carga e hidrofobicidad. Son: isoleucina (+4,5); valina (+4,2); leucina (+3,8); fenilalanina (+2,8); cisteína/cistina (+2,5); metionina (+1,9); alanina (+1,8); glicina (-0,4); treonina (-0,7); serina (-0,8); triptófano (-0,9); tirosina (-1,3); prolina (-1,6); histidina (-3,2); glutamato (-3,5); glutamina (-3,5); aspartato (-3,5); asparagina (-3,5); lisina (-3,9); y arginina (-4,5).

5 Se entiende en la técnica la importancia del índice hidropático del aminoácido en conferir la función biológica interactiva en una proteína. Kyte *et al*, J. Mol. Biol., 157:105-131 (1982). Se sabe que determinados aminoácidos pueden sustituirse por otros aminoácidos que tienen una puntuación o índice hidropático similar y todavía conservar una actividad biológica similar. Cuando se realizan cambios basándose en el índice hidropático, en determinadas realizaciones, se incluye la sustitución de aminoácidos cuyos índices hidropáticos están dentro de ± 2 . En determinadas realizaciones, se incluyen los que están dentro de ± 1 , y en determinadas realizaciones, se incluyen los que están dentro de $\pm 0,5$.

10 También se entiende en la técnica que puede realizarse eficazmente la sustitución de aminoácidos similares partiendo de la base de la hidrofiliidad, particularmente cuando se pretende que el pepticuerpo o péptido biológicamente funcional creado de ese modo se use en realizaciones inmunológicas, como en el presente caso. En determinadas realizaciones, la mayor hidrofiliidad promedio local de una proteína, tal como se rige por la hidrofiliidad de sus aminoácidos adyacentes, está correlacionada con su inmunogenicidad y antigenicidad, es decir, con una propiedad biológica de la proteína.

15 Se han asignado los siguientes valores de hidrofiliidad a estos residuos de aminoácidos: arginina (+3,0); lisina (+3,0); aspartato (+3,0 \pm 1); glutamato (+3,0 \pm 1); serina (+0,3); asparagina (+0,2); glutamina (+0,2); glicina (0); treonina (-0,4); prolina (-0,5 \pm 1); alanina (-0,5); histidina (-0,5); cisteína (-1,0); metionina (-1,3); valina (-1,5); leucina (-1,8); isoleucina (-1,8); tirosina (-2,3); fenilalanina (-2,5) y triptófano (-3,4). Cuando se realizan cambios basándose en valores de hidrofiliidad similares, en determinadas realizaciones, se incluye la sustitución de aminoácidos cuyos valores de hidrofiliidad están dentro de ± 2 , en determinadas realizaciones, se incluyen los que están dentro de ± 1 , y en determinadas realizaciones, se incluyen los que están dentro de $\pm 0,5$. También pueden identificarse epítomos a partir de secuencias primarias de aminoácidos partiendo de la base de la hidrofiliidad. Estas regiones también se denominan "regiones núcleo epitópicas."

20 Las sustituciones de aminoácidos a modo de ejemplo se exponen en la tabla 11 a continuación.

Tabla 11. Sustituciones de aminoácido

Residuos originales	Sustituciones a modo de ejemplo	Sustituciones preferidas
Ala	Val, Leu, Ile	Val
Arg	Lys, Gln, Asn	Lys
Asn	Gln, Glu, Asp	Gln
Asp	Glu, Gln, Asp	Glu
Cys	Ser, Ala	Ser
Gln	Asn, Glu, Asp	Asn
Glu	Asp, Gln, Asn	Asp

25

Gly	Pro, Ala	Ala
His	Asn, Gln, Lys, Arg	Arg
Ile	Leu, Val, Met, Ala, Phe, Norleucina	Leu
Leu	Norleucina, Ile, Val, Met, Ala, Phe	Ile
Lys	Arg, ácido 1,4-diamino- butírico, Gln, Asn	Arg
Met	Leu, Phe, Ile	Leu
Phe	Leu, Val, Ile, Ala, Tyr	Leu
Pro	Ala	Gly
Ser	Thr, Ala, Cys	Thr
Thr	Ser	Ser
Trp	Tyr, Phe	Tyr
Tyr	Trp, Phe, Thr, Ser	Phe
Val	Ile, Met, Leu, Phe, Ala, Norleucina	Leu

- Un experto en la técnica podrá determinar variantes adecuadas de polipéptidos o péptidos útiles tal como se explica en el presente documento usando técnicas bien conocidas. En determinadas realizaciones, un experto en la técnica puede identificar zonas adecuadas de la molécula que pueden cambiarse sin destruir la actividad seleccionando como diana regiones que no se cree que sean importantes para la actividad. En determinadas realizaciones, pueden identificarse residuos y partes de las moléculas que se conservan entre péptidos o polipéptidos similares. En determinadas realizaciones, se puede incluso someter zonas importantes para la actividad biológica o para la estructura a sustituciones de aminoácidos conservativas sin destruir la actividad biológica o sin afectar adversamente a la estructura del polipéptido.
- 5
- 10 Adicionalmente, un experto en la técnica puede revisar estudios de estructura-función que identifican residuos en polipéptidos similares que son importantes para la actividad o la estructura. En vista de una comparación de este tipo, puede predecirse la importancia de residuos de aminoácidos en una proteína que corresponden a residuos de aminoácidos que son importantes para la actividad o la estructura en proteínas similares. Un experto en la técnica puede optar por sustituciones de aminoácidos químicamente similares para tales residuos de aminoácidos que se predice que son importantes.
- 15
- Un experto en la técnica también puede analizar la estructura tridimensional y la secuencia de aminoácidos en relación con esa estructura en polipéptidos similares. En vista de una información de este tipo, un experto en la técnica puede predecir la alineación de residuos de aminoácidos de un anticuerpo con respecto a su estructura tridimensional. En determinadas realizaciones, un experto en la técnica puede elegir no realizar cambios radicales en residuos de aminoácidos que se predice que están sobre la superficie de la proteína, puesto que tales residuos pueden estar implicados en importantes interacciones con otras moléculas. Además, un experto en la técnica puede generar variantes de prueba que contienen una única sustitución de aminoácido en cada residuo de aminoácido deseado. Las variantes pueden seleccionarse entonces usando ensayos de actividad conocidos para los expertos en la técnica. Tales variantes podrían usarse para reunir información sobre variantes adecuadas. Por ejemplo, si se descubre que un cambio en un residuo de aminoácido particular dio como resultado actividad destruida, reducida de manera no deseada, o no adecuada, pueden evitarse las variantes con un cambio de este tipo. En otras palabras, basándose en la información reunida a partir de tales experimentos de rutina, un experto en la técnica puede
- 20
- 25

determinar fácilmente los aminoácidos en los que deben evitarse sustituciones adicionales o bien solas o bien en combinación con otras mutaciones.

5 Varias publicaciones científicas se han dedicado a la predicción de la estructura secundaria. Véanse Moulton J., *Curr. Op. in Biotech.* 7(4):422-427 (1996), Chou *et al.* *Biochemistry*, 13(2):222-245 (1974); Chou *et al.*, *Biochemistry*, 113(2):211-222 (1974); Chou *et al.*, *Adv. Enzymol. Relat. Areas Mol Biol.* 47:45-148 (1978); Chou *et al.*, *Ann. Rev. Biochem.*, 47:251-276 y Chou *et al.*, *Biophys. J.*, 26:367-384 (1979). Además, se dispone actualmente de programas informáticos para ayudar a predecir la estructura secundaria. Un método de predicción de la estructura secundaria se basa en la obtención de modelos de homología. Por ejemplo, dos polipéptidos o proteínas que tienen una identidad de secuencia mayor del 30%, o una similitud mayor del 40% a menudo tienen topologías estructurales similares. El reciente crecimiento de la base de datos estructural de proteínas (PDB) ha proporcionado previsibilidad potenciada de la estructura secundaria, incluyendo el número posible de plegamientos dentro de la estructura de un polipéptido o proteína. Véase Holm *et al.*, *Nucl. Acid. Res.*, 27(1): 244-247 (1999). Se ha sugerido (Brenner *et al.*, *Curr. Op. Struct. Biol.*, 7(3): 369-376 (1997)) que hay un número limitado de plegamientos en un polipéptido o proteína dados y que una vez que se ha resuelto un número crítico de estructuras, la predicción estructural se volverá considerablemente más precisa.

10 Métodos adicionales de predicción de la estructura secundaria incluyen "threading" (diseño por homología remota) (Jones, D., *Curr. Opin. Struct. Biol.*, 7(3):377-87 (1997); Sippl *et al.*, *Structure*, 4(1):15-19 (1996)), "análisis de perfil" (Bowie *et al.*, *Science*, 253:164-170 (1991); Gribskov *et al.*, *Meth. Enzym.*, 183:146-159 (1990); Gribskov *et al.*, *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 84(13):4355-4358 (1987)), y "unión evolutiva" (See Holm, citado anteriormente (1999) y Brenner, citado anteriormente (1997)).

25 En determinadas realizaciones, las variantes de peptidocuerpo incluyen variantes de glicosilación en las que se han añadido uno o más sitios de glicosilación, tales como un sitio de glicosilación unido en N, al peptidocuerpo. Un sitio de glicosilación unido en N se caracteriza por la secuencia: Asn-X-Ser o Asn-X-Thr, en la que el residuo de aminoácido designado como X puede ser cualquier residuo de aminoácido excepto prolina. La sustitución o adición de residuos de aminoácidos para crear esta secuencia proporciona un nuevo sitio potencial para la adición de una cadena de hidrato de carbono unida en N. Alternativamente, las sustituciones que eliminan esta secuencia eliminarán una cadena de hidrato de carbono unida en N. También se proporciona una redistribución de cadenas de hidrato de carbono unidas en N en las que se eliminan uno o más sitios de glicosilación unidos en N (normalmente aquellos que se producen de manera natural) y se crean uno o más nuevos sitios unidos en N.

30 Los compuestos de la presente invención pueden cambiarse también a nivel del ADN. La secuencia de ADN de cualquier parte del compuesto puede cambiarse a codones más compatibles con la célula huésped elegida. Para *E. coli*, que es la célula huésped preferida, se conocen en la técnica codones optimizados. Los codones pueden sustituirse para eliminar sitios de restricción o para incluir sitios de restricción silenciosos, que pueden ayudar en el procesamiento del ADN en la célula huésped seleccionada. Las secuencias de ADN que codifican para el dominio Fc, ligadores, polipéptidos y/o péptidos pueden modificarse para incluir cualquiera de los cambios de secuencia anteriores. Por tanto, todas las modificaciones, sustituciones, derivatizaciones, etc. comentadas en el presente documento se aplican por igual a todas las partes de polipéptido o péptido de la composición de materia de la invención.

40 Una realización de la presente invención incluye partes de péptidos y polipéptido "madurados por afinidad" que incluyen realizaciones de peptidocuerpos. Este procedimiento contempla aumentar la afinidad o la bioactividad de los péptidos y polipéptidos usando presentación en fago u otras tecnologías de selección. Basándose en una secuencia consenso (que se genera para una colección de péptidos relacionados), pueden generarse bibliotecas de presentación en fago secundarias en las que los aminoácidos "núcleo" (determinados a partir de la secuencia consenso) se mantienen constantes o se desvían en frecuencia de aparición. Alternativamente, puede usarse una secuencia peptídica individual para generar una biblioteca de presentación en fago dirigida, desviada. La selección de tales bibliotecas pueden dar péptidos (que pueden convertirse en peptidocuerpos) con unión potenciada a la diana o con bioactividad potenciada.

45 Análogos no peptídicos/miméticos de proteínas. Además, también son útiles análogos no peptídicos de péptidos que proporcionan una estructura estabilizada o biodegradación reducida. Los análogos miméticos de péptidos pueden prepararse basándose en un péptido inhibidor seleccionado mediante la sustitución de uno o más residuos por restos no peptídicos. Preferiblemente, los restos no peptídicos permiten que el péptido conserve su conformación natural, o estabilizar una conformación preferida, por ejemplo, bioactiva, que conserva la capacidad para reconocer y unirse a Ang-2. En un aspecto, el análogo/mimético resultante muestra afinidad de unión aumentada por Ang-2. Un ejemplo de métodos para la preparación de análogos miméticos no peptídicos de péptidos se describen en Nachman *et al.*, *Regul. Pept.* 57:359-370 (1995). Si se desea, los péptidos de la invención pueden modificarse, por ejemplo, mediante glicosilación, amidación, carboxilación o fosforilación, o mediante la creación de sales de adición de ácido, amidas, ésteres, en particular ésteres C-terminales y derivados de N-acilo de los péptidos de la invención. Los peptidocuerpos también pueden modificarse para crear derivados de péptidos formando complejos covalentes o no covalentes con otros restos. Los complejos unidos covalentemente pueden prepararse mediante la unión de restos químicos a grupos funcionales en las cadenas laterales de aminoácidos que comprenden los peptidocuerpos, o en el extremo N- o C-terminal.

Los péptidos pueden conjugarse con un grupo indicador, incluyendo, pero sin limitarse a, un radiomarcador, un marcador fluorescente, una enzima (por ejemplo, que cataliza una reacción colorimétrica o fluorométrica), un sustrato, una matriz sólida o un portador (por ejemplo, biotina o avidina). La invención por consiguiente proporciona una molécula que comprende una molécula de peptidocuerpo, en la que la molécula comprende preferiblemente además un grupo indicador seleccionado del grupo que consiste en un radiomarcador, un marcador fluorescente, una enzima, un sustrato, una matriz sólida y un portador. Tales marcadores se conocen bien por los expertos en la técnica, por ejemplo, se contemplan particularmente los marcadores de biotina. El uso de tales marcadores se conoce bien por los expertos en la técnica y se describe en, por ejemplo, las patentes estadounidenses n.^{os} 3.817.837; 3.850.752; 3.996.345; y 4.277.437. Otros marcadores que serán útiles incluyen pero no se limitan a marcadores radioactivos, marcadores fluorescentes y marcadores quimioluminiscentes. Las patentes estadounidenses acerca del uso de tales marcadores incluyen, por ejemplo, las patentes estadounidenses n.^{os} 3.817.837; 3.850.752; 3.939.350; y 3.996.345. Cualquiera de los peptidocuerpos de la presente invención puede comprender uno, dos, o más de cualquiera de estos marcadores.

Métodos recombinantes. En general, las partes de péptido o polipéptido de los compuestos inventivos de esta invención (incluyendo péptidos o polipéptidos como restos, ligadores y/o dominios Fc adicionales) pueden obtenerse en buena parte en células huésped transformadas usando técnicas de ADN recombinante. Para hacer esto, se prepara una molécula de ADN recombinante que codifica para el péptido. Los métodos de preparación de tales moléculas de ADN se conocen bien en la técnica. Por ejemplo, podrían cortarse secuencias que codifican para los péptidos del ADN usando enzimas de restricción adecuadas. Alternativamente, la molécula de ADN podría sintetizarse usando técnicas de síntesis química, tales como el método de fosforamidoato. Además, podría usarse una combinación de estas técnicas.

Por consiguiente, la presente invención también se refiere a ácidos nucleicos, vectores de expresión y células huésped útiles en la producción de composiciones polipeptídicas de la presente invención. Las células huésped pueden ser células eucariotas, prefiriéndose las células de mamífero, por ejemplo, células CHO y células HEK293. Las células huésped también pueden ser células procariotas, siendo las más preferidas las células de *E. coli*.

Los compuestos de esta invención pueden obtenerse en buena parte en células huésped transformadas usando técnicas de ADN recombinante. Para hacer esto, se prepara una molécula de ADN recombinante que codifica para el péptido. Los métodos de preparación de tales moléculas de ADN se conocen bien en la técnica. Por ejemplo, podrían cortarse secuencias que codifican para los péptidos del ADN usando enzimas de restricción adecuadas. Alternativamente, la molécula de ADN podría sintetizarse usando técnicas de síntesis química, tales como el método de fosforamidoato. Además, podría usarse una combinación de estas técnicas.

La invención también incluye un vector que puede expresar los péptidos en un huésped apropiado. El vector comprende la molécula de ADN que codifica para los péptidos unida operativamente a secuencias de control de la expresión adecuadas. Los métodos para efectuar esta unión operativa, o bien antes o bien después de que la molécula de ADN se inserte en el vector, son bien conocidos. Las secuencias de control de la expresión incluyen promotores, activadores, potenciadores, operadores, sitios de unión a ribosomas, señales de inicio, señales de terminación, señales de tapado, señales de poliadenilación y otras señales implicadas en el control de la transcripción o la traducción.

El vector resultante que tiene la molécula de ADN en el mismo se usa para transformar un huésped apropiado. Esta transformación puede realizarse usando métodos bien conocidos en la técnica.

Puede usarse cualquiera de un gran número de células huésped bien conocidas y disponibles en la práctica de esta invención. La selección de un huésped particular depende de varios factores reconocidos en la técnica. Estos incluyen, por ejemplo, la compatibilidad con el vector de expresión elegido, la toxicidad de los péptidos codificados por la molécula de ADN, la tasa de transformación, la facilidad de recuperación de los péptidos, las características de expresión, la bioseguridad y los costes. Debe encontrarse un equilibrio de estos factores con la comprensión de que no todos los huéspedes pueden ser igualmente eficaces para la expresión de una secuencia de ADN particular. Dentro de estas directrices generales, las células huésped microbianas útiles incluyen bacterias (tales como *E. coli* sp.), levaduras (tales como *Saccharomyces* sp.) y otros hongos, insectos, plantas, células de mamífero (incluyendo ser humano) en cultivo, u otros huéspedes conocidos en la técnica.

A continuación, la célula huésped transformada se cultiva y se purifica. Pueden cultivarse células huésped en condiciones de fermentación convencionales de modo que se expresen los compuestos deseados. Tales condiciones de fermentación se conocen bien en la técnica. Finalmente, los péptidos se purifican del cultivo mediante métodos bien conocidos en la técnica.

Los compuestos también pueden obtenerse mediante métodos sintéticos. La síntesis en fase sólida es la técnica preferida de obtención de péptidos individuales puesto que es el método más rentable de obtener péptidos pequeños. Por ejemplo, técnicas de síntesis en fase sólida bien conocidas incluyen el uso de grupos protectores, ligadores, y soportes de fase sólida, así como condiciones de reacción de protección y desprotección específicas, condiciones de escisión del ligador, uso de eliminadores y otros aspectos de la síntesis de péptidos en fase sólida. Las técnicas adecuadas se conocen bien en la técnica. (Por ejemplo, Merrifield (1973), Chem. Polypeptides, págs.

- 335-61 (Katsoyannis y Panayotis eds.); Merrifield (1963), *J. Am. Chem. Soc.* 85: 2149; Davis *et al.* (1985), *Biochem. Intl.* 10: 394-414; Stewart y Young (1969), *Solid Phase Peptide Synthesis*: patente estadounidense n.º 3.941.763; Finn *et al.* (1976), *The Proteins* (3ª ed.) 2: 105-253; y Erickson *et al.* (1976), *The Proteins* (3ª ed.) 2: 257-527; "Protecting Groups in Organic Synthesis," 3ª Edición, T. W. Greene y P. G. M. Wuts, Eds., John Wiley & Sons, Inc., 1999; NovaBiochem Catalog, 2000; "Synthetic Peptides, A User's Guide," G. A. Grant, Ed., W.H. Freeman & Company, Nueva York, N. Y., 1992; "Advanced Chemtech Handbook of Combinatorial & Solid Phase Organic Chemistry," W. D. Bennet, J. W. Christensen, L. K. Hamaker, M. L. Peterson, M. R. Rhodes, y H. H. Saneii, Eds., Advanced Chemtech, 1998; "Principles of Peptide Synthesis, 2ª ed.," M. Bodanszky, Ed., Springer-Verlag, 1993; "The Practice of Peptide Synthesis, 2ª ed.," M. Bodanszky y A. Bodanszky, Eds., Springer-Verlag, 1994; "Protecting Groups," P. J. Kocienski, Ed., Georg Thieme Verlag, Stuttgart, Alemania, 1994; "Fmoc Solid Phase Peptide Synthesis, A Practical Approach," W. C. Chan y P. D. White, Eds., Oxford Press, 2000, G. B. Campos *et al.*, *Synthetic Peptides: A User's Guide*, 1990, 77-183).

Ya se preparen las composiciones de la presente invención mediante técnicas sintéticas o recombinantes, también puede implicar técnicas de purificación de proteínas adecuadas, cuando puedan aplicarse. En algunas realizaciones de las composiciones de la invención, la parte de péptido de toxina y/o la parte de prolongación de semivida, o cualquier otra parte, puede prepararse para que incluya un marcador isotópico adecuado (por ejemplo, ^{125}I , ^{14}C , ^{13}C , ^{35}S , ^3H , ^2H , ^{13}N , ^{15}N , ^{18}O , ^{17}O , etc.), para facilitar la cuantificación o detección.

Los compuestos que contienen péptidos o polipéptidos derivatizados, o que contienen grupos no peptídicos pueden sintetizarse mediante técnicas de química orgánica bien conocidas.

20 Usos de los compuestos inventivos

En general. Los compuestos de esta invención tienen actividad farmacológica que resulta de su capacidad para unirse a proteínas de interés como agonistas, miméticos o antagonistas de los ligandos nativos de tales proteínas de interés. A modo de ejemplo, la utilidad de una variedad de compuestos específicos se muestra en las tablas 5 - 10. La actividad de estos compuestos puede medirse mediante ensayos conocidos en la técnica.

Además de los usos terapéuticos, los compuestos de la presente invención son útiles en diagnosticar enfermedades caracterizadas por la disfunción de su proteína asociada de interés. Para algunas de estas realizaciones de diagnóstico y para otros fines de detección (incluyendo semicuantitativos y cuantitativos), puede ser útil la conjugación del dominio Fc con un sustrato inmovilizado como un resto funcional adicional, tal como pero sin limitarse a, una superficie de placa, un chip, una perla, una matriz o una partícula. También puede ser útil para tales fines un resto marcado de manera detectable con un radioisótopo, una enzima (por ejemplo, una peroxidasa o una cinasa), un resto de biotínulo, un fluoróforo o un cromóforo.

En una realización, un método de detección en una muestra biológica de una proteína de interés (por ejemplo, un receptor) que puede activarse, que comprende las etapas de: (a) poner en contacto la muestra con un compuesto de esta invención; y (b) detectar la activación de la proteína de interés mediante el compuesto. Las muestras biológicas incluyen muestras de tejido, células intactas o extractos de los mismos. Los compuestos de esta invención pueden usarse como parte de un kit para detectar la presencia de sus proteínas de interés asociadas en una muestra biológica. Tales kits emplean los compuestos de la invención que tienen un marcador unido para permitir la detección. Los compuestos son útiles para identificar proteínas de interés normales o anómalas. Para los compuestos miméticos de EPO, por ejemplo, la presencia de una proteína de interés anómala en una muestra biológica puede ser indicativa de trastornos tales como anemia de Diamond Blackfan, en la que se cree que el receptor de EPO es disfuncional.

Usos terapéuticos de moléculas miméticas de EPO

Los compuestos miméticos de EPO de la invención son útiles para tratar trastornos caracterizados por bajos niveles de glóbulos rojos. En la invención se incluyen métodos de modulación de la actividad endógena de un receptor de EPO en un mamífero, preferiblemente métodos de aumentar la actividad de un receptor de EPO. En general, cualquier condición que pueda tratarse mediante eritropoyetina, tal como anemia, también puede tratarse por los compuestos miméticos de EPO de la invención. Estos compuestos se administran en una cantidad y vía de administración que es apropiada para la naturaleza y gravedad del estado que está tratándose y puede determinarse por un experto en la técnica.

Preferiblemente, la administración es mediante inyección, ya sea subcutánea, intramuscular o intravenosa.

Usos terapéuticos de compuestos miméticos de TPO

Para los compuestos miméticos de TPO, pueden utilizarse ensayos convencionales tales como los descritos en el documento WO95/26746 titulado "Compositions and Methods for Stimulating Megakaryocyte Growth and Differentiation." Los estados que van a tratarse son generalmente los que implican una deficiencia de megacariocitos/plaquetas existente o una deficiencia de megacariocitos/plaquetas esperada (por ejemplo, debido a cirugía programada o donación de plaquetas). Tales estados serán habitualmente el resultado de una deficiencia (temporal o permanente) del ligando Mpl *in vivo*. El término genérico para la deficiencia de plaquetas es

trombocitopenia y, por tanto, los métodos y las composiciones de la presente invención están generalmente disponibles para tratar la trombocitopenia en pacientes con necesidad de los mismos.

5 La trombocitopenia (deficiencia de plaquetas) puede estar presente por diversas razones, incluyendo quimioterapia y otra terapia con una variedad de fármacos, terapia de radiación, cirugía, pérdida de sangre accidental y otros estados patológicos específicos. Estados patológicos específicos a modo de ejemplo que implican trombocitopenia y que pueden tratarse según esta invención son: anemia aplásica, trombocitopenia idiopática, tumores metastáticos que dan como resultado trombocitopenia, lupus sistémico eritematoso, esplenomegalia, síndrome de Fanconi, deficiencia de vitamina B12, deficiencia de ácido fólico, anomalía de May-Hegglin, síndrome de Wiskott-Aldrich y hemoglobinuria nocturna paroxística. Además, determinados tratamientos para el SIDA dan como resultado trombocitopenia (por ejemplo, AZT). Determinados trastornos de cicatrización de heridas también podrían beneficiarse de un aumento en el número de plaquetas.

10 Con respecto a las deficiencias de plaquetas previstas, por ejemplo, debido a cirugía futura, podría administrarse un compuesto de la presente invención de varios días a varias horas antes de la necesidad de plaquetas. Con respecto a situaciones agudas, por ejemplo, pérdida de sangre accidental y masiva, podría administrarse un compuesto de esta invención junto con sangre o plaquetas purificadas.

15 Los compuestos miméticos de TPO de esta invención también pueden ser útiles en la estimulación de determinados tipos celulares distintos a megacariocitos si se encuentra que tales células expresan el receptor de Mpl. Los estados asociados con tales células que expresan el receptor de Mpl, que son responsables de la estimulación por el ligando Mpl, también están dentro del alcance de esta invención.

20 Los compuestos miméticos de TPO de esta invención pueden usarse en cualquier situación en la que se desee la producción de plaquetas o células precursoras de plaquetas, o en la que se desee la estimulación del receptor de c-Mpl. Por tanto, por ejemplo, los compuestos de esta invención pueden usarse para tratar cualquier estado en un mamífero en el que exista una necesidad de plaquetas, megacariocitos, y similares. Tales estados se describen en detalle en las siguientes fuentes a modo de ejemplo: WO95/26746; WO95/21919; WO95/18858; WO95/21920.

25 Los compuestos miméticos de TPO de esta invención también pueden ser útiles para mantener la viabilidad o la vida en almacenamiento de plaquetas y/o megacariocitos y células relacionadas. Por consiguiente, podrían ser útiles para incluir una cantidad eficaz de uno o más de tales compuestos en una composición que contiene tales células.

Usos terapéuticos de moléculas de unión a Ang-2

30 Pueden usarse agentes que modulan la actividad de unión a Ang-2, u otra actividad celular, en combinación con otros agentes terapéuticos para potenciar sus efectos terapéuticos o para disminuir posibles efectos secundarios.

En un aspecto, la presente invención proporciona reactivos y métodos útiles para tratar enfermedades y estados caracterizados por niveles indeseables o aberrantes de actividad de Ang-2 en una célula. Estas enfermedades incluyen cánceres y otros estados hiperproliferativos, tales como hiperplasia, psoriasis, dermatitis de contacto, trastornos inmunológicos y esterilidad.

35 La presente invención también proporciona métodos para tratar el cáncer en un animal, incluyendo seres humanos, que comprende administrar al animal una cantidad eficaz de un agente de unión específico, tal como un peptidocuerpo, que inhibe o disminuye la actividad de Ang-2. La invención se refiere además a métodos para inhibir el crecimiento de células cancerosas, incluyendo procesos de proliferación celular, capacidad de invasión y metástasis en sistemas biológicos. Los métodos incluyen el uso de un compuesto de la invención as un inhibidor del crecimiento de células cancerosas. Preferiblemente, los métodos se emplean para inhibir o reducir el crecimiento de células cancerosas, la capacidad de invasión, la metástasis o la incidencia tumoral en animales vivos, tales como mamíferos. Los métodos de la invención también son fácilmente adaptables para su uso en sistemas de ensayo, por ejemplo, someter a ensayo el crecimiento de células cancerosas y las propiedades de las mismas, así como identificar los compuestos que afectan al crecimiento celular del cáncer.

40 Los cánceres que pueden tratarse mediante los métodos de la presente invención se producen preferiblemente en mamíferos. Los mamíferos incluyen, por ejemplo, seres humanos y otros primates, así como mascotas o animales de compañía tales como perros y gatos, animales de laboratorio tales como ratas, ratones y conejos, y animales de granja tales como caballos, cerdos, ovejas y ganado.

45 Los tumores o neoplasmas incluyen crecimientos de células tisulares en los que la multiplicación de las células es no controlada y progresiva. Algunos de tales crecimientos son benignos, pero otros se denominan malignos y pueden conducir a la muerte del organismo. Los cánceres o neoplasmas malignos se distinguen de los crecimientos benignos en que, además de mostrar proliferación celular agresiva, pueden invadir tejidos circundantes y metastatizar. Además, los neoplasmas malignos se caracterizan porque muestran una pérdida mayor de diferenciación (mayor desdiferenciación) y de su organización unos en relación con los otros y sus tejidos circundantes. Esta propiedad también se denomina "anaplasia."

50 Los neoplasmas que pueden tratarse por la presente invención también incluyen tumores sólidos, es decir,

carcinomas y sarcomas. Los carcinomas incluyen aquellos neoplasmas malignos derivados de células epiteliales que se infiltran (invaden) en los tejidos circundantes y dan lugar a metástasis. Los adenocarcinomas son carcinomas derivados de tejido glandular, o que forman estructuras glandulares reconocibles. Otra amplia categoría de cánceres incluye sarcomas, que son tumores cuyas células están embebidas en una sustancia fibrilar u homogénea como tejido conjuntivo embrionario. La invención también permite el tratamiento de cánceres de los sistemas mieloide o linfoide, incluyendo leucemias, linfomas y otros cánceres que normalmente no están presentes como masa tumoral, sino que están distribuidos en los sistemas vascular o linforreticular.

Las moléculas de unión a ang-2 de esta invención son por tanto útiles para el tratamiento de una amplia variedad de cánceres, incluyendo tumores sólidos y leucemias. Los tipos de cáncer o células tumorales susceptibles del tratamiento según la invención incluyen, por ejemplo, tumor productor de ACTH; leucemia linfocítica aguda; leucemia no linfocítica aguda; adenoma; cáncer de la corteza suprarrenal; adenocarcinoma de mama, próstata y colon; ameloblastoma; apudoma; cáncer de vejiga; cáncer de cerebro; branquioma; cáncer de mama; todas las formas de carcinoma broncogénico de pulmón; enfermedad cardíaca carcinoide; carcinoma (por ejemplo, de Walker, de células basales, basoescamoso, de Brown-Pearce, ductal, tumor de Ehrlich, de Krebs 2, de células de Merkel, mucinoso, de pulmón de células no pequeñas, de células en avena, papilar, escirroso, bronquiolar, broncogénico, de células escamosas y de células de transición); síndrome carcinoide maligno; carcinoma de células pequeñas de pulmón inoproliferativo; cementoma; cáncer de cuello uterino; condroblastoma; condroma; condrosarcoma; coristoma; leucemia linfocítica crónica; leucemia mielocítica crónica, cáncer colorrectal; cordoma; craneofaringioma; linfoma cutáneo de células T; disgerminoma; cáncer endometrial; cáncer esofágico; sarcoma de Ewing; fibroma; fibrosarcoma; cáncer de vesícula; tumores de células gigantes; glioma; leucemia de células pilosas; hamartoma; cáncer de cabeza y cuello; hepatoma; trastornos histiocíticos; histiocitosis; linfoma de Hodgkin; sarcoma de Kaposi; cáncer de riñón; lipoma; liposarcoma; cáncer de hígado; cáncer de pulmón (de células pequeñas y no pequeñas); efusión peritoneal maligna; efusión pleural maligna; melanoma; mesenquimoma; mesonefoma; mesotelioma; mieloma múltiple; miosarcoma; mixoma; mixosarcoma; neuroblastoma; linfoma no Hodgkin; odontoma; osteoma; osteosarcoma; cáncer de ovario; cáncer (de células germinales); cáncer pancreático; papiloma; cáncer de pene; plasmacitoma; cáncer de próstata; reticuloendoteliosis; retinoblastoma; cáncer de piel; sarcoma de tejidos blandos; carcinomas de células escamosas; cáncer de estómago; teratoma; cáncer testicular; timoma; cáncer de tiroides, neoplasmas trofoblásticos; cáncer uterino; cáncer vaginal; cáncer de la vulva; tumor de Wilms.

Además, también pueden tratarse los siguientes tipos de cánceres: colangioma; colesteatoma; ciclindroma; cistadenocarcinoma; cistadenoma; tumor de células granulosa; ginandroblastoma; hidradenoma; tumor de células de los islotes; tumor de células de Leydig; papiloma; tumor de células de Sertoli; tumor de células de la teca; leiomioma; leiomiosarcoma; mioblastoma; mioma; miosarcoma; rabdomioma; rabdomyosarcoma; endodimoma; ganglioneuroma; glioma; meduloblastoma; meningioma; neurilemoma; neuroblastoma; neuroepitelioma; neurofibroma; neuroma; paraganglioma; paraganglioma de células no cromafinas; angioqueratoma; hiperplasia angiolinfocítica con eosinofilia; angioma esclerosante; angiomatosis; glomangioma; hemangioendotelioma; hemangioma; hemangiopericitoma; hemangiosarcoma; linfangioma; linfangiomioma; linfangiosarcoma; pinealoma; carcinosarcoma; condrosarcoma; cistosarcoma filodes; fibrosarcoma; hemangiosarcoma; leiomiosarcoma; leucosarcoma; liposarcoma; linfangiosarcoma; miosarcoma; mixosarcoma; carcinoma de ovario; rabdomyosarcoma; sarcoma; neoplasmas; neurofibromatosis; y displasia de cuello uterino.

Usos terapéuticos de moléculas de unión a NGF

Las moléculas de unión a NGF pueden usarse en la prevención o el tratamiento de enfermedades y trastornos relacionados con el NGF. Tales indicaciones incluyen pero no se limitan a dolor (incluyendo, pero sin limitarse a, dolor inflamatorio e hiperalgesia y alodinia asociadas, dolor neuropático e hiperalgesia y alodinia asociadas, dolor por neuropatía diabética, causalgia, dolor mantenido de manera simpática, síndromes de desafiación, dolor agudo, cefalea tensional, migraña, dolor dental, dolor producido por traumatismo, dolor quirúrgico, dolor que resulta de amputación o absceso, causalgia, enfermedades desmielinizantes y neuralgia del trigémino). Los péptidos y péptidos modificados de la invención tienen valor terapéutico para la prevención o el tratamiento de otras enfermedades asociadas al NGF como agente causante, incluyendo, pero sin limitarse a, asma, incontinencia imperiosa (es decir, vejiga hiperactiva), psoriasis, cáncer (especialmente, cáncer pancreático y melanoma), alcoholismo crónico, accidente cerebrovascular, síndrome de dolor talámico, diabetes, síndrome de inmunodeficiencia adquirida ("SIDA"), toxinas y quimioterapia, cefalea general, migraña, cefalea, cefalea en racimos, síndromes vasculares y no vasculares mixtos, inflamación general, artritis, enfermedades reumáticas, lupus, osteoartritis, trastornos inflamatorios del intestino, enfermedades inflamatorias oculares, trastornos de vejiga inflamatorios o inestables, psoriasis, dolencias cutáneas con componentes inflamatorios, quemaduras solares, carditis, dermatitis, miositis, neuritis, enfermedades vasculares del colágeno, estados inflamatorios crónicos, asma, daño o disfunción del tejido epitelial; herpes simple; alteraciones de la motilidad visceral en regiones respiratorias, genitoruinas, gastrointestinales o vasculares, heridas, quemaduras, reacciones cutáneas alérgicas, prurito, vitiligo, trastornos gastrointestinales generales, colitis, ulceración gástrica, úlceras duodenales, rinitis vasomotora o alérgica, o trastornos bronquiales.

Usos terapéuticos de moléculas de unión a miostatina

Los agentes de unión a miostatina de la presente invención se unen a miostatina y bloquean o inhiben la

señalización de miostatina dentro de las células diana. La presente invención proporciona métodos y reactivos para reducir la cantidad o actividad de miostatina en un animal mediante la administración al animal de una dosificación eficaz de uno o más agentes de unión a miostatina. En un aspecto, la presente invención proporciona métodos y reactivos para tratar trastornos relacionados con miostatina en un animal que comprende administrar una dosificación eficaz de uno o más agentes de unión al animal. Estos trastornos relacionados con miostatina incluyen pero no se limitan a diversas formas de atrofia muscular progresiva, así como trastornos metabólicos tales como diabetes y trastornos relacionados, y enfermedades degenerativas óseas tales como osteoporosis.

Tal como se muestra en el ejemplo 8 del documento estadounidense con n.º de serie 10/742,379, los pepticuerpos a modo de ejemplo de la presente invención aumentan espectacularmente la masa muscular magra en el modelo de ratón CDI nu/nu. Esta actividad *in vivo* se correlaciona con la unión *in vitro* y la actividad inhibidora descrita más adelante para los mismos pepticuerpos.

Los trastornos de atrofia muscular progresiva incluyen distrofias tales como distrofia muscular de Duchenne, distrofia muscular progresiva, distrofia muscular de tipo Becker, distrofia muscular de Dejerine-Landouzy, distrofia muscular de Erb y distrofia muscular neuroaxonal infantil. Por ejemplo, el bloqueo de la miostatina a través del uso de anticuerpos *in vivo* mejoró el fenotipo distrófico del modelo de ratón mdx de distrofia muscular de Duchenne (Bogdanovich *et al.* (2002), *Nature* 420: 28). El uso de un pepticuerpo a modo de ejemplo aumenta la masa muscular magra y aumenta la razón de músculo magro con respecto a grasa en modelos de ratón mdx tal como se describe en el ejemplo 9 más adelante.

Trastornos de atrofia muscular progresiva adicionales surgen de enfermedad crónica tal como esclerosis lateral amiotrófica, enfermedad pulmonar obstructiva congestiva, cáncer, SIDA, insuficiencia renal y artritis reumatoide. Por ejemplo, se indujeron caquexia o atrofia muscular progresiva y pérdida de peso corporal en ratones desnudos atímicos mediante la administración sistémica de miostatina (Zimmers *et al.*, citado anteriormente). En otro ejemplo, se encontró que las concentraciones séricas e intramusculares de miostatina-proteína inmunorreactiva estaban aumentadas en hombres que mostraban atrofia muscular progresiva relacionada con SIDA y estaban inversamente relacionadas con masa libre de grasa (Gonzalez-Cadavid *et al.* (1998), *PNAS USA* 95: 14938-14943). Estados adicionales que dan como resultado atrofia muscular progresiva pueden surgir de la inactividad debida a incapacidad tal como confinamiento en una silla de ruedas, reposo en cama prolongado debido a accidente cerebrovascular, enfermedad, fractura ósea o traumatismo, y atrofia muscular en un entorno de microgravedad (vuelo espacial). Por ejemplo, se encontró que la proteína inmunorreactiva miostatina plasmática aumentaba tras reposo en cama prolongado (Zachwieja *et al.* *J Gravit Physiol.* 6(2): 11 (1999). También se encontró que los músculos de ratas expuestas a un entorno de microgravedad durante un vuelo de lanzadera espacial expresaban una cantidad aumentada de miostatina en comparación con los músculos de ratas que no se expusieron (Lalani *et al.* (2000), *J. Endocrin.* 167(3):417-28).

Además aumentos relacionados con la edad en razones de grasa respecto a músculo y atrofia muscular relacionada con la edad parecen estar relacionados con la miostatina. Por ejemplo, la proteína inmunorreactiva a miostatina sérica promedio aumentó con la edad en grupos de hombres y mujeres jóvenes (19-35 años), de mediana edad (36-75 años) y ancianos (76-92 años), mientras que la masa libre de grasa y la masa muscular promedio disminuyeron con la edad en estos grupos (Yarasheski *et al.* *J Nutr Aging* 6(5):343-8 (2002)). También se ha demostrado que la desactivación del gen de miostatina en ratones aumentó la miogénesis y disminuyó a adipogénesis (Lin *et al.* (2002), *Biochem Biophys Res Commun* 291(3):701-6, dando como resultado adultos con masa muscular aumentada y secreción de leptina y acumulación de grasa disminuidas. Las moléculas a modo de ejemplo mejoran la razón de masa de músculo magro con respecto a grasa en ratones mdx ancianos tal como se muestra más adelante.

Además ahora se ha encontrado que la miostatina se expresa a bajos niveles en el músculo cardiaco y que la expresión está regulada por incremento por cardiomiocitos tras un infarto (Sharma *et al.* (1999), *J Cell Physiol.* 180(1): 1-9). Por tanto, la reducción de los niveles de miostatina en el músculo cardiaco puede mejorar la recuperación del músculo cardiaco tras un infarto.

La miostatina también parece influir en trastornos metabólicos incluyendo diabetes tipo 2, diabetes mellitus no insulino dependiente, hiperglucemia y obesidad. Por ejemplo, se ha demostrado que la falta de miostatina mejora los fenotipos obeso y diabético de dos modelos de ratón (Yen *et al.* citado anteriormente). Además, el aumento de la masa muscular mediante la reducción de los niveles de miostatina puede mejorar la resistencia ósea y reducir la osteoporosis y otros trastornos óseos degenerativos. Se ha encontrado, por ejemplo, que ratones deficientes en miostatina mostraron un aumento en el contenido mineral y densidad del húmero de ratón y un aumento en el contenido mineral tanto del hueso trabecular como del cortical en las regiones en que se unen los músculos, así como masa muscular aumentada (Hamrick *et al.* (2002), *Calcif Tissue Int* 71(1): 63-8). En la presente invención, un pepticuerpo a modo de ejemplo aumenta la razón de masa muscular magra con respecto a grasa en modelos de ratón mdx tal como se muestra más adelante.

La presente invención también proporciona métodos y reactivos para aumentar la masa muscular en animales para el consumo mediante la administración de una dosificación eficaz del agente de unión a miostatina al animal. Puesto que el polipéptido de miostatina C-terminal maduro es idéntico en todas las especies sometidas a prueba, se esperaría que los agentes de unión a miostatina fueran eficaces para aumentar la masa muscular y reducir la grasa

en cualquier especie importante desde el punto de vista agrícola incluyendo ganado, pollos, pavos y cerdos.

5 Las moléculas de unión a miostatina de la presente invención pueden usarse solas o en combinación con otros agentes terapéuticos para potenciar sus efectos terapéuticos o para disminuir posibles efectos secundarios. Las moléculas de la presente invención poseen una o más combinaciones deseables pero inesperadas de propiedades para mejorar el valor terapéutico de los agentes. Estas propiedades incluyen actividad aumentada, solubilidad aumentada, degradación reducida, semivida aumentada, toxicidad reducida e inmunogenicidad reducida. Por tanto, las moléculas de la presente invención son útiles para regímenes de tratamiento prolongados. Además, las propiedades de hidrofiliidad e hidrofobicidad de los compuestos de la invención están bien equilibradas, potenciando de ese modo su utilidad tanto para usos *in vitro* como especialmente *in vivo*. Específicamente, los compuestos de la invención tienen un grado apropiado de solubilidad en medios acuosos que permite la absorción y la biodisponibilidad en el organismo, mientras que también tienen un grado de solubilidad en lípidos que permite que los compuestos atraviesen la membrana celular hasta un posible sitio de acción, tal como una masa muscular particular.

10 Las moléculas de unión a miostatina de la presente invención son útiles para tratar a un "sujeto" o cualquier animal, incluyendo seres humanos, cuando se administran en dosificaciones eficaces en una composición adecuada.

15 Además, las moléculas de unión a miostatina de la presente invención son útiles para detectar y cuantificar la miostatina en varios ensayos. Estos ensayos se describen en detalle en el documento estadounidense con n.º de serie 10/742.379.

20 En general, las moléculas de unión a miostatina de la presente invención son útiles como agentes de captura para unirse a e inmovilizar la miostatina en una variedad de ensayos, similares a los descritos, por ejemplo, en Asai, ed., *Methods in Cell Biology*, 37, *Antibodies in Cell Biology*, Academic Press, Inc., Nueva York (1993). La molécula de unión a miostatina puede marcarse de alguna forma o puede reaccionar con una tercera molécula tal como un anticuerpo anti-molécula de unión que está marcado para permitir que se detecte y cuantifique la miostatina. Por ejemplo, una molécula de unión a miostatina o una tercera molécula pueden modificarse con un resto detectable, tal como biotina, que entonces puede unirse mediante una cuarta molécula, tal como estreptavidina marcada con enzima u otras proteínas. (Akerstrom (1985), *J Immunol* 135:2589; Chaubert (1997), *Mod Pathol* 10:585).

25 A lo largo de cualquier ensayo particular, pueden requerirse etapas de incubación y/o lavado tras cada combinación de reactivos. Las etapas de incubación pueden variar desde aproximadamente 5 segundos hasta varias horas, preferiblemente desde aproximadamente 5 minutos hasta aproximadamente 24 horas. Sin embargo, el tiempo de incubación dependerá del formato del ensayo, del volumen de disolución, de las concentraciones, y similares. Habitualmente, los ensayos se llevarán a cabo a temperatura ambiente, aunque pueden realizarse en un intervalo de temperaturas.

30 Usos terapéuticos de moléculas de unión a BAFF. Las moléculas de unión a BAFF de esta invención pueden ser particularmente útiles en el tratamiento de enfermedades autoinmunitarias mediadas por células B. En particular, pueden ser útiles en el tratamiento, la prevención, la mejora, el diagnóstico o el pronóstico de lupus, incluyendo lupus sistémico eritematoso (SLE), y enfermedades y estados asociados con lupus. Otras indicaciones preferidas incluyen cánceres mediados por células B, incluyendo linfoma de células B.

35 Los compuestos de esta invención también pueden usarse para tratar estados inflamatorios de las articulaciones. Los estados inflamatorios de una articulación son enfermedades articulares crónicas que afectan e incapacitan, en diversos grados, a millones de personas en todo el mundo. La artritis reumatoide es una enfermedad de articulaciones articulares en las que el cartílago y el hueso se erosionan lentamente por un tejido conjuntivo invasivo, proliferativo denominado panículo adiposo, que se deriva de la membrana sinovial. La enfermedad puede implicar estructuras peri-articulares tales como la bolsa, vainas tendinosas y tendones así como tejidos extra-articulares tales como la hipodermis, el sistema cardiovascular, los pulmones, el bazo, los ganglios linfáticos, los músculos esqueléticos, el sistema nervioso (central y periférico) y los ojos (Silberberg (1985), *Anderson's Pathology*, Kissane (ed.), II:1828). La osteoartritis es una enfermedad común de las articulaciones caracterizada por cambios degenerativos en el cartílago articular y por la proliferación reactiva de hueso y cartílago alrededor de la articulación. La osteoartritis es un proceso activo mediado por células que puede resultar de la respuesta inapropiada de los condrocitos a estímulos catabólicos y anabólicos. Según se ha notificado se producen cambios en algunas moléculas de la matriz del cartílago articular en la osteoartritis temprana (Thonar *et al.* (1993), *Rheumatic disease clinics of North America*, Moskowitz (ed.), 19:635-657 y Shinmei *et al.* (1992), *Arthritis Rheum.*, 35:1304-1308). Se cree que TALL-1, TALL-1R y moduladores de los mismos son útiles en el tratamiento de estos y otros estados relacionados.

40 Las moléculas de unión a BAFF también pueden ser útiles en el tratamiento de varias enfermedades y trastornos adicionales, incluyendo pancreatitis aguda; ALS; enfermedad de Alzheimer; asma; aterosclerosis; anemia hemolítica autoinmunitaria; cáncer, particularmente cánceres relacionados con células B; caquexia/anorexia; síndrome de fatiga crónica; cirrosis (por ejemplo, cirrosis biliar primaria); diabetes (por ejemplo, diabetes insulínica); fiebre; glomerulonefritis, incluyendo glomerulonefritis por IgA y glomerulonefritis primaria; síndrome de Goodpasture; síndrome de Guillain-Barre; enfermedad de injerto contra huésped; tiroiditis de Hashimoto; choque hemorrágico;

hiperalgesia; enfermedad inflamatoria del intestino; estados inflamatorios de una articulación, incluyendo osteoartritis, artritis psoriásica y artritis reumatoide; estados inflamatorios que resultan de esfuerzo, esguince, daño en el cartílago, traumatismo, cirugía ortopédica, infección u otros procesos patológicos; diabetes mellitus insulino dependiente, lesión isquémica, incluyendo isquemia cerebral (por ejemplo, lesión cerebral como resultado de traumatismo, epilepsia, hemorragia o accidente cerebrovascular, pudiendo conducir cada uno de ellos a neurodegeneración); problemas de aprendizaje; enfermedades pulmonares (por ejemplo, ARDS); lupus, particularmente lupus sistémico eritematoso (SLE); mieloma múltiple; esclerosis múltiple; miastenia grave; leucemias mielógenas (por ejemplo, AML y CML) y otras leucemias; miopatías (por ejemplo, metabolismo proteico muscular, esp. en sepsis); neurotoxicidad (por ejemplo, inducida por VIH); osteoporosis; dolor; enfermedad de Parkinson; pénfigo; polimiositis/dermatomiositis; inflamación pulmonar, incluyendo inflamación pulmonar autoinmunitaria; parto pretérmino; psoriasis; enfermedad de Reiter; lesión por reperfusión; choque séptico; efectos secundarios a partir de terapia por radiación; síndrome de Sjogren; alteración del sueño; enfermedad de articulación tempomandibular; trombocitopenia, incluyendo trombocitopenia idiopática y trombocitopenia neonatal autoinmunitaria; metástasis tumoral; uveítis; y vasculitis.

15 Terapia de combinación. Los métodos terapéuticos, las composiciones y los compuestos de la presente invención también pueden emplearse, solos o en combinación con otras citocinas, receptor de Mpl soluble, factores hematopoyéticos, interleucinas, factores de crecimiento o anticuerpos en el tratamiento de estados patológicos caracterizados por otros síntomas así como deficiencias de plaquetas. Se prevé que el compuesto de la invención demostrará ser útil en el tratamiento de algunas formas de trombocitopenia en combinación con agentes estimuladores generales de la hematopoyesis, tales como IL-3 o GM-CSF. También pueden emplearse otros factores estimulantes de megacariocitos, es decir, meg-CSF, factor de células madre (SCF), factor inhibidor de leucemia (LIF), oncostatina M (OSM), u otras moléculas con actividad estimulante de megacariocitos con el ligando Mpl. Citocinas o factores hematopoyéticos a modo de ejemplo adicionales para tal co-administración incluyen IL-1 alfa, IL-1 beta, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-11, factor estimulante de colonias - 1 (CSF-I), SCF, GM-CSF, factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF), EPO, interferón alfa (IFN-alfa), interferón de consenso, IFN-beta, o IFN-gamma. Además puede ser útil administrar, o bien simultánea o bien secuencialmente, una cantidad eficaz de un receptor de Mpl soluble de mamífero, que parece tener el efecto de hacer que los megacariocitos se fragmenten en plaquetas una vez que los megacariocitos han alcanzado la forma madura. Por tanto, se espera que la administración de un compuesto de la invención (para potenciar el número de megacariocitos maduros) seguida por la administración del receptor de Mpl soluble (para inactivar el ligando y permitir que los megacariocitos maduros produzcan plaquetas) sea un medio particularmente eficaz para estimular la producción de plaquetas. La dosificación citada anteriormente se ajustaría para compensar tales componentes adicionales en la composición terapéutica. El progreso del paciente tratado puede monitorizarse mediante métodos convencionales.

35 En los casos en que los compuestos de la invención se añaden a composiciones de plaquetas y/o megacariocitos y células relacionadas, la cantidad que ha de incluirse se determinará generalmente de manera experimental mediante técnicas y ensayos conocidos en la técnica. Un intervalo a modo de ejemplo de cantidades es 0,1 μg – 1 mg del compuesto de la invención 10^6 células.

40 Péptidos de toxina que incorporan agentes terapéuticos. Algunas realizaciones de la composición de materia de la invención incorporan péptidos de toxina como restos funcionales adicionales, péptidos de toxina que pueden tener actividad farmacológica resultante de la capacidad para unirse a canales iónicos de interés como agonistas, miméticos o antagonistas de los ligandos nativos de tales canales iónicos de interés. Por consiguiente, tales realizaciones de la composición de materia de la invención pueden tener utilidad en el tratamiento de patologías asociadas con los canales iónicos. Las enfermedades hereditarias que tienen una relación conocida con los canales iónicos ("canelopatías") cubren diversos campos de la medicina, incluyendo algunos de ellos neurología, nefrología, 45 miología y cardiología. Una lista de trastornos heredados atribuidos a los canales iónicos (tipos de canal entre paréntesis) incluye:

- fibrosis quística (canal de Cl^- ; CFTR),
- enfermedad de Dent (proteinuria e hipercalciuria; canal de Cl^- ; CLCN5),
- osteopetrosis (canal de Cl^- ; CLCN7),
- 50 • hiperinsulinemia familiar (SUR1; KCNJ11; canal de K),
- diabetes (canal KATP / SUR),
- síndrome de Andersen (KCNJ2, Kir2.1 canal de K),
- síndrome de Bartter (KCNJ1 ; Kir1.1/ROMK; canal de K),
- pérdida auditiva hereditaria (KCNQ4; canal de K),
- 55 • hipertensión hereditaria (síndrome de Liddle; SCNN1 ; canal de Na epitelial),

- cardiomiopatía dilatada (SUR2, canal de K),
 - síndrome de QT largo o arritmias cardíacas (canales de potasio y sodio cardíacos),
 - síndrome de Thymothy (CACNA1C, Cav1.2),
 - síndromes miasténicos (CHRNA, CHRNB, CNRNE; nAChR), y una variedad de otras miopatías,
- 5
- parálisis periódica hipercalémica (canales de Na y K),
 - epilepsia (canales de Na⁺ y K⁺),
 - migraña hemipléjica (CACNA1A, Cav2.1, canal de Ca²⁺ y ATP1A2),
 - enfermedad de cuerpos centrales (RYR1, RyR1; canal de Ca²⁺), y
 - paramiotonía y mionía (canales de Na⁺, Cl⁻)
- 10
- Véanse L.J. Ptacek y Y-H Fu (2004), Arch. Neurol. 61: 166-8; B.A. Niemeyer *et al.* (2001), EMBO reports 21: 568-73; F. Lehmann-Horn y K. Jurkat-Rott (1999), Physiol. Rev. 79: 1317-72. Aunque la lista anterior se refiere a trastornos de origen hereditario, las moléculas que seleccionan como diana los canales citados en estos trastornos también pueden ser útiles para tratar trastornos relacionados de otro origen, o indeterminados.
- 15
- Además de los trastornos mencionados anteriormente, también se han proporcionado pruebas que apoyan los canales iónicos como dianas para el tratamiento de:
- anemia drepanocítica (IKCa1), - en la anemia drepanocítica, la pérdida de agua de los eritrocitos conduce a polimerización de la hemoglobina y posterior hemólisis y obstrucción vascular. La pérdida de agua es el resultado del flujo de salida de potasio a través del denominado canal Gardos, es decir, IKCa1. Por tanto, el bloqueo de IKCa1 es un tratamiento terapéutico potencial para la anemia drepanocítica,
- 20
- glaucoma (BKCa), - en el glaucoma, la presión intraocular es demasiado alta lo que conduce a daño del nervio óptico, función ocular anómala y posiblemente ceguera. El bloqueo de los canales de potasio BKCa puede reducir la secreción de fluido intraocular y aumentar la contracción del músculo liso, conduciendo posiblemente a disminuir la presión intraocular y la neuroprotección en el ojo,
 - esclerosis múltiple (Kv, KCa),
- 25
- psoriasis (Kv, KCa),
 - artritis (Kv, KCa),
 - asma (KCa, Kv),
 - alergia (KCa, Kv),
 - COPD (KCa, Kv, Ca),
- 30
- rinitis alérgica (KCa, Kv),
 - fibrosis pulmonar,
 - lupus (IKCa1, Kv),
 - trasplante, GvHD (KCa, Kv),
 - resorción ósea inflamatoria (KCa, Kv),
- 35
- enfermedad periodontal (KCa, Kv),
 - diabetes, tipo I (Kv), - la diabetes tipo I es una enfermedad autoinmunitaria que se caracteriza por metabolismo anómalo de glucosa, proteínas y lípidos, y está asociada con deficiencia o resistencia a la insulina. En esta enfermedad, linfocitos T que expresan Kv1.3 atacan y destruyen los islotes pancreáticos, lo que conduce a pérdida de células beta. El bloqueo de Kv1.3 disminuye las citocinas inflamatorias. Además, el bloqueo de Kv1.3 facilita la translocación de GLUT4 a la membrana plasmática, aumentando de ese modo la sensibilidad de la insulina,
- 40
- obesidad (Kv), - Kv1.3 parece desempeñar un papel crítico en el control de la homeostasis de energía y en la protección frente a la obesidad inducida por la dieta. Por consiguiente, los bloqueantes de Kv1.3 podrán aumentar la tasa metabólica, lo que conduce a una mayor utilización de la energía y a una disminución del peso corporal.
- 45

- 5
 reestenosis (KCa, Ca²⁺), - la proliferación y migración de células del músculo liso vascular puede conducir a engrosamiento de la neointima y a reestenosis vascular. La proliferación excesiva de células del músculo liso vascular de la neointima está asociada con expresión elevada de IKCa1. Por tanto, el bloqueo de IKCa1 podría representar una estrategia terapéutica para prevenir la reestenosis tras la angioplastia.
- 10
 isquemia (KCa, Ca²⁺), - en la isquemia neuronal o cardiaca, la despolarización de las membranas celulares conduce a apertura de canales de sodio y calcio dependientes de voltaje. A su vez, esto puede conducir a sobrecarga de calcio, lo que es citotóxico. El bloqueo de los canales de sodio y/o calcio dependientes de voltaje puede reducir la sobrecarga de calcio y proporcionar efectos citoprotectores. Además, debido a su papel crítico en el control y la estabilización del potencial de la membrana celular, los moduladores de los canales de potasio activados por calcio y voltaje también pueden actuar para reducir la sobrecarga de calcio y proteger a las células.
- 15
 incontinencia renal (KCa), la incontinencia renal está asociada con células del músculo liso de la vejiga hiperactivas. Los canales de potasio activados por calcio se expresan en las células del músculo liso de la vejiga, donde controlan el potencial de membrana y controlan indirectamente la fuerza y frecuencia de la contracción celular. Los agentes de apertura de los canales de potasio activados por calcio, por tanto, proporcionan un mecanismo para amortiguar la actividad eléctrica y contráctil en la vejiga, lo que conduce a reducción de la necesidad imperiosa de orinar.
- 20
 osteoporosis (Kv),
- 25
 dolor, incluyendo migraña (Na_v, TRP [canales de potencial de receptor transitorio], P2X, Ca²⁺), los canales de calcio dependientes del voltaje de tipo N son reguladores clave de la neurotransmisión nociceptiva en la médula espinal. La ziconotida, un bloqueante peptídico de los canales de calcio de tipo N reduce la neurotransmisión nociceptiva y está aprobada en todo el mundo para el alivio sintomático del dolor crónico intenso en seres humanos. Los bloqueantes novedosos de los canales de calcio de tipo N específicos de nociceptor serán analgésicos mejorados con perfiles de efectos secundarios reducidos.
- 30
 hipertensión (Ca²⁺), - los canales de calcio dependientes de voltaje de tipo L y de tipo T se expresan en células del músculo liso vascular donde controlan el acoplamiento de excitación-contracción y la proliferación celular. En particular, la actividad de los canales de calcio de tipo T se ha asociado con la formación de la neointima durante la hipertensión. Los bloqueantes de los canales de calcio de tipo L y tipo T son útiles para el tratamiento clínico de la hipertensión porque reducen el flujo de entrada de calcio e inhiben la contracción de las células del músculo liso.
- 35
 cicatrización de heridas, la migración celular desempeña un papel clave en la cicatrización de heridas. Los gradientes de calcio intracelular se han implicado como reguladores importantes de la maquinaria de migración celular en queratinocitos y fibroblastos. Además, el flujo iónico a través de las membranas celulares está asociado con cambios en el volumen celular. Mediante el control del volumen celular, los canales iónicos contribuyen al entorno intracelular que se requiere para el funcionamiento de la maquinaria de migración celular. En particular, IKCa1 parece requerirse de manera universal para la migración celular. Además, Kv1.3, Kv3.1, receptores de NMDA y canales de calcio de tipo N están asociados con la migración de linfocitos y neuronas.
- 40
 accidente cerebrovascular.
- 45
 enfermedad de Alzheimer,
- 40
 enfermedad de Parkinson (nACHR, Nav),
- 45
 trastorno bipolar (Nav, Cav)
- 45
 cáncer, muchos genes de canales de potasio se amplifican y las subunidades de proteínas se regulan por incremento en muchos estados cancerosos. De manera consecuente con un papel fisiopatológico para la regulación por incremento de los canales de potasio, se ha demostrado que los bloqueantes de los canales de potasio suprimen la proliferación de células de cáncer uterino y células de hepatocarcinoma, presumiblemente a través de la inhibición del flujo de entrada de calcio y de los efectos sobre la expresión de genes dependientes de calcio.
- 45
 una variedad de enfermedades neurológicas, cardiovasculares, metabólicas y autoinmunitarias.
- 50

Tanto los agonistas como los antagonistas de los canales iónicos pueden lograr un beneficio terapéutico. Los beneficios terapéuticos pueden resultar de, por ejemplo, antagonizar con Kv1.3, IKCa1, SKCa, BKCa, canales de Ca²⁺ de tipo N o tipo L y similares. Se ha demostrado que antagonistas peptídicos y de molécula pequeña de estos canales poseen utilidad *in vitro* e *in vivo*.

Las enfermedades y restos adicionales farmacológicamente activos descritos en el presente documento son meramente a modo de ejemplo y en modo alguno limitan la variedad de compuestos y composiciones de la

invención farmacológicamente activos que pueden prepararse usando el método de la invención o las enfermedades y trastornos que pueden tratarse con el beneficio de la presente invención.

Composiciones farmacéuticas

5 En general. La presente invención también proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden la composición de materia de la invención y un portador farmacéuticamente aceptable. Tales composiciones farmacéuticas pueden configurarse para su administración a un paciente mediante una amplia variedad de vías de administración, por ejemplo, una vía de administración intravascular tal como mediante inyección o infusión, vías de administración subcutánea, intramuscular, intraperitoneal, epidural o intratecal, o para vías de administración oral, enteral, pulmonar (por ejemplo, inhalante), intranasal, transmucosa (por ejemplo, administración sublingual), transdérmica u otras vías de administración y/o formas de administración conocidas en la técnica. Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden prepararse en forma líquida, o pueden estar en forma de polvo seco, tal como forma liofilizada. Para uso oral o enteral, las composiciones farmacéuticas pueden configurarse, por ejemplo, como comprimidos, trociscos, pastillas para chupar, suspensiones acuosas u oleosas, polvos o gránulos dispersables, emulsiones, cápsulas duras o blandas, jarabes, elixires o fórmulas enterales.

15 En la práctica de esta invención, el "portador farmacéuticamente aceptable" es cualquier sustancia fisiológicamente tolerada conocida por los expertos habituales en la técnica útil en la formulación de composiciones farmacéuticas, incluyendo, cualquier diluyente, excipiente, dispersante, aglutinante, carga, deslizante, agente anti-fricción, adyuvante de compresión, agente de disgregación de comprimidos (disgregante), agente de suspensión, lubricante, aromatizante, odorizante, edulcorante, potenciador de la permeación o penetración, conservante, tensioactivo, solubilizante, emulsionante, espesante, adyuvante, colorante, recubrimiento, material de encapsulación farmacéuticamente aceptable y/u otros aditivos individualmente o en combinación. Tales composiciones farmacéuticas pueden incluir diluyentes de diverso contenido tamponante (por ejemplo, Tris-HCl, acetato, fosfato), pH y fuerza iónica; aditivos tales como detergentes y agentes solubilizantes (por ejemplo, Tween[®] 80, polisorbato 80), antioxidantes (por ejemplo, ácido ascórbico, metabisulfito de sodio), conservantes (por ejemplo, Thimerosal[®], alcohol bencílico) y sustancias de carga (por ejemplo, lactosa, manitol); la incorporación del material en preparaciones particuladas de compuestos poliméricos tales como poli(ácido láctico), poli(ácido glicólico), etc. o en liposomas. También puede usarse ácido hialurónico y esto puede tener el efecto de promover la duración sostenida en la circulación. Tales composiciones pueden influir en el estado físico, la estabilidad, la velocidad de la liberación *in vivo* y la velocidad del aclaramiento *in vivo* de las proteínas y derivados presentes. Véase, por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences, 18^a Ed. (1990, Mack Publishing Co., Easton, PA 18042) páginas 1435-1712. Las composiciones pueden prepararse en forma líquida, o pueden estar en polvo seco, tal como forma liofilizada. Las formulaciones implantables de liberación sostenida también son útiles, ya que son formulaciones transdérmicas o transmucosas. Adicional (o alternativamente), la presente invención proporciona composiciones para su uso en cualquiera de las diversas formulaciones de liberación lenta o sostenida o formulaciones de micropartículas conocidas por el experto en la técnica, por ejemplo, las formulaciones de micropartículas de liberación sostenida, que pueden administrarse mediante vías de administración pulmonar, intranasal o subcutánea.

Pueden diluirse las composiciones de la invención o aumentar el volumen de las composiciones farmacéuticas de la invención con un material inerte. Tales diluyentes pueden incluir hidratos de carbono, especialmente, manitol, α -lactosa, lactosa anhidra, celulosa, sacarosa, dextranos modificados y almidón. También pueden usarse determinadas sales inorgánicas como cargas, incluyendo trifosfato de calcio, carbonato de magnesio y cloruro de sodio. Algunos diluyentes disponibles comercialmente son Fast-Flo, Emdex, STA-Rx 1500, Emcompress y Avicell.

Una variedad de espesantes convencionales son útiles en configuraciones de cremas, pomadas, supositorios y geles de la composición farmacéutica, tales como, pero sin limitarse a, alginato, goma xantana o vaselina, también pueden emplearse en tales configuraciones de la composición farmacéutica de la presente invención. También puede emplearse un potenciador de la permeación o penetración, tal como monolaurato de polietilenglicol, dimetilsulfóxido, N-vinil-2-pirrolidona, N-(2-hidroxietil)-pirrolidona o 3-hidroxi-N-metil-2-pirrolidona. Se conocen técnicas útiles para producir matrices de hidrogel. (Por ejemplo, Feijen, Biodegradable hydrogel matrices for the controlled release of pharmacologically active agents, patente estadounidense n.º 4.925.677; Shah *et al.*, Biodegradable pH/thermosensitive hydrogels for sustained delivery of biologically active agents, documento WO 00/38651 A1). Pueden formarse tales matrices de gel biodegradables, por ejemplo, mediante reticulación de un componente proteínico y un componente de polisacárido o mucopolisacárido, cargándose entonces con la composición de materia de la invención que va a administrarse.

Pueden administrarse a un paciente composiciones farmacéuticas líquidas de la presente invención que son disoluciones o suspensiones estériles mediante inyección, por ejemplo, por vía intramuscular, por vía intratecal, por vía epidural, por vía intravascular (por ejemplo, por vía intravenosa o por vía intraarterial), por vía intraperitoneal o por vía subcutánea. (Véase, por ejemplo, Goldenberg *et al.*, Suspensions for the sustained release of proteins, patente estadounidense n.º 6.245.740 y documento WO 00/38652 A1). También pueden administrarse disoluciones estériles mediante infusión intravenosa. La composición de la invención puede incluirse en una composición farmacéutica sólida estéril, tal como un polvo liofilizado, que puede disolverse o suspenderse en un momento conveniente antes de su administración a un paciente usando agua estéril, solución salina, solución salina tamponada u otro medio inyectable estéril apropiado.

- 5 Formulaciones implantables de liberación sostenida también son realizaciones útiles de las composiciones farmacéuticas de la invención. Por ejemplo, el portador farmacéuticamente aceptable, que es una matriz biodegradable implantada dentro del cuerpo o bajo la piel de un vertebrado humano o no humano, puede ser un hidrogel similar a los descritos anteriormente. Alternativamente, puede formarse a partir de un componente de poli-alfa-aminoácido. (Sidman, Biodegradable, implantable drug delivery device, and process for preparing and using same, patente estadounidense n.º 4.351.337). También se conocen otras técnicas para preparar implantes para la administración de fármacos y son útiles según la presente invención.
- 10 En formas de polvo, el portador farmacéuticamente aceptable es un sólido finamente dividido, que está en mezcla con principio(s) activo(s) finamente dividido(s), incluyendo la composición de la invención. Por ejemplo, en algunas realizaciones, una forma de polvo es útil cuando la composición farmacéutica se configura como un inhalante. (Véanse, por ejemplo, Zeng *et al.*, Method of preparing dry powder inhalation compositions, documento WO 2004/017918; Trunk *et al.*, Salts of the CGRP antagonist BIBN4096 and inhalable powdered medicaments containing them, patente estadounidense n.º 6.900.317).
- 15 Puede diluirse o aumentarse el volumen del compuesto de la invención con un material inerte. Estos diluyentes podrán incluir hidratos de carbono, especialmente manitol, α -lactosa, lactosa anhidra, celulosa, sacarosa, dextranos modificados y almidón. También pueden usarse determinadas sales inorgánicas como cargas incluyendo trifosfato de calcio, carbonato de magnesio y cloruro de sodio. Algunos diluyentes disponibles comercialmente son Fast-Flo™, Emdex™, STA-Rx™ 1500, Emcompress™ y Avicell™.
- 20 Pueden incluirse disgregantes en la formulación de la composición farmacéutica para dar una forma farmacéutica sólida. Los materiales usados como disgregantes incluyen pero no se limitan a almidón incluyendo el disgregante comercial basado en almidón, Explotab™. Pueden usarse glicolato sódico de almidón, Amberlite™, carboximetilcelulosa de sodio, ultramilopectina, alginato de sodio, gelatina, piel de naranja, carboximetilcelulosa ácida, esponja natural y bentonita.
- 25 Resina de intercambio catiónico insoluble es otra forma de disgregante. Pueden usarse gomas en polvo como disgregantes y como aglutinantes y éstas pueden incluir gomas en polvo tales como goma agar, karaya o tragacanto. También son útiles como disgregantes ácido algínico y su sal de sodio.
- 30 Pueden usarse aglutinantes para mantener el agente terapéutico junto para formar un comprimido duro e incluyen materiales de productos naturales tales como goma arábica, tragacanto, almidón y gelatina. Otros incluyen metilcelulosa (MC), etilcelulosa (EC) y carboximetilcelulosa (CMC). Puede usarse polivinilpirrolidona (PVP) e hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) ambas en disoluciones alcohólicas para granular el producto terapéutico.
- 35 Puede incluirse un agente antifricción en la formulación del producto terapéutico para prevenir la adherencia durante el procedimiento de formulación. Pueden usarse lubricantes como una capa entre el producto terapéutico y la pared del troquel, y éstos pueden incluir pero no se limitan a; ácido esteárico incluyendo sus sales de magnesio y calcio, politetrafluoroetileno (PTFE), parafina líquida, aceites vegetales y ceras. También pueden usarse lubricantes solubles tales como laurilsulfato de sodio, laurilsulfato de magnesio, polietilenglicol de diversos pesos moleculares, Carbowax 4000 y 6000.
- 40 Pueden añadirse deslizantes que mejorarán las propiedades de flujo del fármaco durante la formulación y para ayudar a la reordenación durante la compresión. Los deslizantes pueden incluir almidón, talco, sílice pirogénica y silicoaluminato hidratado.
- 45 Para ayudar en la disolución del compuesto de esta invención en el entorno acuoso, puede añadirse un tensioactivo como agente humectante. Los tensioactivos pueden incluir detergentes aniónicos tales como laurilsulfato de sodio, dioctilsulfosuccinato de sodio y dioctilsulfonato de sodio. Pueden usarse detergentes catiónicos y puede incluirse cloruro de benzalconio o cloruro de bencetonio. La lista de posibles detergentes no iónicos que pueden incluirse en la formulación como tensioactivos son lauromacrogol 400, estearato de polioxilo 40, aceite de ricino hidrogenado de polioxietileno 10, 50 y 60, monoestearato de glicerol, polisorbato 40, 60, 65 y 80, ésteres de ácidos grasos de sacarosa, metilcelulosa y carboximetilcelulosa. Estos tensioactivos pueden estar presentes en la formulación de la proteína o derivado o bien solos o bien como una mezcla en diferentes razones.
- 50 Formas farmacéuticas orales. También son útiles formas farmacéuticas orales de las composiciones de la invención. Si es necesario, la composición puede modificarse químicamente de modo que la administración oral sea eficaz. Generalmente, la modificación química contemplada es la unión de al menos un resto a la propia molécula, en la que dicho resto permite (a) la inhibición de la proteólisis; y (b) la captación en el torrente sanguíneo a partir del estómago o el intestino. También se desea el aumento en la estabilidad global del compuesto y el aumento en el tiempo de circulación en el organismo. También pueden usarse para este fin restos útiles como restos que prolongan la semivida unidos covalentemente en esta invención. Los ejemplos de tales restos incluyen: PEG, copolímeros de etilenglicol y propilenglicol, carboximetilcelulosa, dextrano, poli(alcohol vinílico), polivinilpirrolidona y poliprolina.
- 55 Véanse, por ejemplo, Abuchowski y Davis (1981), Soluble Polymer-Enzyme Adducts, Enzymes as Drugs (Hocenberg y Roberts, eds.), Wiley-Interscience, Nueva York, NY, págs. 367-83; Newmark, *et al.* (1982), J. Appl. Biochem. 4: 185-9. Otros polímeros que pueden usarse son poli-1,3-dioxolano y poli-1,3,6-tioxocano. Se prefieren para uso

farmacéutico, tal como se indicó anteriormente, restos de PEG.

Para formas farmacéuticas de administración oral, también es posible usar una sal de un aminoácido alifático modificado, tal como N-(8-[2-hidroxibenzoil]amino)caprilato de sodio (SNAC), como portador para potenciar la absorción de los compuestos terapéuticos de esta invención. La eficacia clínica de una formulación de heparina que usa SNAC se ha demostrado en un ensayo de fase II realizado por Emisphere Technologies. Véase la patente estadounidense n.º 5.792.451, "Oral drug delivery composition and methods".

En una realización, el portador farmacéuticamente aceptable puede ser un líquido y la composición farmacéutica se prepara en forma de una disolución, suspensión, emulsión, jarabe, elixir o composición presurizada. El/los principio(s) activo(s) (por ejemplo, la composición de materia de la invención) puede(n) disolverse, diluirse o suspenderse en un portador líquido farmacéuticamente aceptable tal como agua, un disolvente orgánico, una mezcla de ambos o aceites o grasas farmacéuticamente aceptables. El portador líquido puede contener otros aditivos farmacéuticos adecuados tales como detergentes y/o solubilizantes (por ejemplo, Tween 80, polisorbato 80), emulsionantes, tampones a pH apropiado (por ejemplo, Tris-HCl, acetato, fosfato), adyuvantes, antioxidantes (por ejemplo, ácido ascórbico, metabisulfito de sodio), conservantes (por ejemplo, timerosal, alcohol bencílico), edulcorantes, agentes aromatizantes, agentes de suspensión, agentes espesantes, sustancias de carga (por ejemplo, lactosa, manitol), colores, reguladores de la viscosidad, estabilizantes, electrolitos, osmolitos u osmorreguladores. También pueden incluirse en la formulación aditivos para potenciar la captación de la composición de la invención. Aditivos que tienen potencialmente esta propiedad son por ejemplo los ácidos grasos, ácido oleico, ácido linoleico y ácido linoléico.

Son útiles formas farmacéuticas sólidas orales, que se describen generalmente en Remington's Pharmaceutical Sciences (1990), citado anteriormente, en el capítulo 89. Las formas farmacéuticas sólidas incluyen comprimidos, cápsulas, píldoras, trociscos o pastillas para chupar, cachets o grageas. Además, puede usarse encapsulación liposómica o proteínica para formular las presentes composiciones (como, por ejemplo, microesferas proteínicas notificadas en la patente estadounidense n.º 4.925.673). Puede usarse encapsulación liposómica y los liposomas pueden derivatizarse con diversos polímeros (por ejemplo, patente estadounidense n.º 5.013.556). Se facilita una descripción de posibles formas farmacéuticas sólidas para el producto terapéutico en Marshall, K., Modern Pharmaceutics (1979), editado por G. S. Banker y C. T. Rhodes, en el capítulo 10. En general, la formulación incluirá el compuesto de la invención, y componentes inertes que permiten la protección frente al entorno del estómago, y liberan el material biológicamente activo en el intestino.

La composición de esta invención puede incluirse en la formulación como materiales multiparticulados finos en forma de gránulos o grageas de tamaño de partícula de aproximadamente 1 mm. La formulación del material para la administración en cápsulas podría también estar como un polvo, tapones ligeramente comprimidos o incluso como comprimidos. El producto terapéutico podría prepararse mediante compresión.

Pueden incluirse colorantes y agentes aromatizantes. Por ejemplo, la proteína (o derivado) puede formularse (tal como mediante encapsulación en microesferas o liposomas) y entonces contenerse adicionalmente dentro de un producto comestible, tal como una bebida refrigerada que contiene colorantes y agentes aromatizantes.

En forma de comprimido, el/los principio(s) activo(s) se mezcla(n) en proporciones adecuadas con un portador farmacéuticamente aceptable que tiene las propiedades de compresión necesarias y se compactan para dar la forma y el tamaño deseados. Los polvos y comprimidos contienen preferiblemente hasta el 99% del/de los principio(s) activo(s). Los portadores sólidos adecuados incluyen, por ejemplo, fosfato de calcio, estearato de magnesio, talco, azúcares, lactosa, dextrina, almidón, gelatina, celulosa, polivinilpirrolidona, ceras de bajo punto de fusión y resinas de intercambio iónico.

Puede ser deseable una formulación de liberación controlada. La composición de esta invención podría incorporarse en una matriz inerte que permite liberar mediante o bien difusión o bien mecanismos de lixiviación, por ejemplo, gomas. También pueden incorporarse matrices de degeneración lenta en la formulación, por ejemplo, alginatos, polisacáridos. Otra forma de una liberación controlada de las composiciones de esta invención es mediante un método basado en el sistema terapéutico Oros™ (Alza Corp.), es decir, el fármaco se encierra en una membrana semipermeable que permite la entrada de agua y el empuje hacia fuera del fármaco a través de una abertura pequeña única debido a efectos osmóticos. Algunos recubrimientos entéricos tienen también un efecto de liberación retardada.

Pueden usarse otros recubrimientos para la formulación. Éstos incluyen una variedad de azúcares que pueden aplicarse en una cubeta de recubrimiento. También puede administrarse el agente terapéutico en un comprimido recubierto con película y los materiales usados en este caso se dividen en 2 grupos. Los primeros son los materiales no entéricos e incluyen metilcelulosa, etilcelulosa, hidroxietilcelulosa, metilhidroxietilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, carboximetilcelulosa de sodio, povidona y los polietilenglicoles. El segundo grupo consiste en los materiales entéricos que son comúnmente ésteres de ácido ftálico.

Podría usarse una mezcla de materiales para proporcionar el recubrimiento de película óptimo. Puede llevarse a cabo el recubrimiento con película en un recubridor de cubeta o en un lecho fluidizado o mediante recubrimiento por

compresión.

Formas de administración pulmonar. También es útil la administración pulmonar de las composiciones de la invención. La proteína (o derivado) se administra a los pulmones de un mamífero mientras inhala y atraviesa el revestimiento epitelial del pulmón hasta el torrente sanguíneo. (Otros informes de esto incluyen Adjei *et al.*, *Pharma. Res.*, 7:565-569 (1990); Adjei *et al.*, (1990) *Internatl. J. Pharmaceutics*, 63: 135-44 (acetato de leuprolida); Braquet *et al.*, (1989) *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 13 (supl. 5): s143-146 (endotelina-1); Hubbard *et al.*, (1989) *Annals Int. Med.*, 3:206-212, (α 1-antitripsina); Smith *et al.*, (1989) *J. Clin. Invest.*, 84: 1145-1146, (α 1-proteinasa); Oswein *et al.*, (marzo de 1990), "Aerosolization of Proteins", *Proc. Symp. Resp. Drug Delivery II*, Keystone, Colorado, (hormona de crecimiento humana recombinante); Debs *et al.*, (1988) *J. Immunol.*, 140:3482-8 (interferón- γ y factor de necrosis tumoral α); y Platz *et al.*, patente estadounidense n.º 5.284.656 (factor estimulante de colonias de granulocitos). En la práctica de la presente invención son útiles una amplia gama de dispositivos mecánicos diseñados para la administración pulmonar de productos terapéuticos, incluyendo, pero sin limitarse a nebulizadores, inhaladores de dosis medida e inhaladores de polvo, todos los cuales son familiares para los expertos en la técnica. Algunos ejemplos específicos de dispositivos disponibles comercialmente adecuados para la práctica de esta invención son el nebulizador Ultravent, fabricado por Mallinckrodt, Inc., St. Louis, Missouri; el nebulizador Acorn II, fabricado por Marquest Medical Products, Englewood, Colorado; el inhalador Ventolin de dosis medida, fabricado por Glaxo Inc., Research Triangle Park, Carolina del Norte; y el inhalador de polvo Spinhaler, fabricado por Fisons Corp., Bedford, Massachusetts. (Véanse, por ejemplo, Helgesson *et al.*, *Inhalation device*, patente estadounidense n.º 6.892.728; McDerment *et al.*, *Dry powder inhaler*, documento WO 02/11801 A1; Ohki *et al.*, *Inhalant medicator*, patente estadounidense n.º 6.273.086).

Todos los dispositivos de este tipo requieren el uso de formulaciones adecuadas para la dispensación del compuesto de la invención. Normalmente, cada formulación es específica para el tipo de dispositivo empleado y puede implicar el uso de un material propelente apropiado, además de disolventes, adyuvantes y/o portadores útiles en terapia.

El compuesto de la invención debe prepararse lo más ventajosamente en forma particulada con un tamaño de partícula promedio de menos de 10 μ m (o micrómetros), lo más preferiblemente de 0,5 a 5 μ m, para lograr la administración más eficaz al pulmón distal.

Los portadores farmacéuticamente aceptables incluyen hidratos de carbono tales como trehalosa, manitol, xilitol, sacarosa, lactosa y sorbitol. Otros componentes para su uso en las formulaciones pueden incluir DPPC, DOPE, DSPC y DOPC. Pueden usarse tensioactivos naturales o sintéticos. Puede usarse PEG (incluso aparte de su uso en la derivatización de la proteína o el análogo). Pueden usarse dextranos, tales como ciclodextrano. Pueden usarse sales biliares y otros potenciadores relacionados. Pueden usarse celulosa y derivados de celulosa. Pueden usarse aminoácidos, tal como su uso en una formulación tampón.

Además, se contempla el uso de liposomas, microcápsulas o microesferas, complejos de inclusión u otros tipos de portadores.

Las formulaciones adecuadas para su uso con un nebulizador, o bien de chorro o bien ultrasónico, comprenderán normalmente el compuesto de la invención disuelto en agua a una concentración de aproximadamente 0,1 a 25 mg de proteína biológicamente activa por ml de disolución. La formulación puede también incluir un tampón y un azúcar sencillo (por ejemplo, para la estabilización de la proteína y la regulación de la presión osmótica). La formulación de nebulizador también puede contener un tensioactivo, para reducir o prevenir la agregación de la proteína inducida por la superficie provocada por la atomización de la disolución al formar el aerosol.

Las formulaciones para uso con un dispositivo inhalador de dosis medida comprenderán generalmente un polvo finamente dividido que contiene el compuesto de la invención suspendido en un propelente con la ayuda de un tensioactivo. El propelente puede ser cualquier material convencional empleado para este fin tal como un clorofluorocarbono, un hidrocloreofluorocarbono, un hidrofluorocarbono o un hidrocarburo, incluyendo triclorofluorometano, diclorodifluorometano, diclorotetrafluoroetanol y 1,1,1,2-tetrafluoroetano, o combinaciones de los mismos. Los tensioactivos adecuados incluyen trioleato de sorbitano y lecitina de soja. También puede ser útil ácido oleico como tensioactivo. (Véase, por ejemplo, Bäckström *et al.*, *Aerosol drug formulations containing hydrofluoroalkanes and alky saccharides*, patente estadounidense n.º 6.932.962).

Las formulaciones para su dispensación a partir de un dispositivo inhalador de polvo comprenderán un polvo seco finamente dividido que contiene el compuesto de la invención y también puede incluir un agente de carga, tal como lactosa, sorbitol, sacarosa, manitol, trehalosa o xilitol en cantidades que facilitan la dispersión del polvo desde el dispositivo, por ejemplo, del 50 al 90% en peso de la formulación.

Formas de administración nasal. Según la presente invención, también es útil la administración intranasal de la composición de materia y/o composiciones farmacéuticas de la invención, que permite el paso de las mismas al torrente sanguíneo directamente tras la administración al interior de la nariz, sin necesidad de deposición del producto en el pulmón. Las formulaciones adecuadas para administración intranasal incluyen aquéllas con dextrano o ciclodextrano, y se conocen dispositivos de administración intranasal. (Véase, por ejemplo, Freezer, Inhaler,

patente estadounidense n.º 4.083.368).

5 Formas de administración transdérmica y transmucosa (por ejemplo, bucal). En algunas realizaciones, la composición de la invención se configura como una parte de un trocisco o parche transmucoso o transdérmico farmacéuticamente aceptable. Se conocen sistemas de administración de fármacos en parches transdérmicos, por ejemplo, parches transdérmicos de tipo matriz, y son útiles para poner en práctica algunas realizaciones de las presentes composiciones farmacéuticas. (Por ejemplo, Chien *et al.*, Transdermal estrogen/progestin dosage unit, system and process, patentes estadounidenses n.ºs 4.906.169 y 5.023.084; Cleary *et al.*, Diffusion matrix for transdermal drug administration and transdermal drug delivery devices including same, patente estadounidense n.º 4.911.916; Teillaud *et al.*, EVA-based transdermal matrix system for the administration of an estrogen and/or a progestogen, patente estadounidense n.º 5.605.702; Venkateshwaran *et al.*, Transdermal drug delivery matrix for coadministering estradiol and another steroid, patente estadounidense n.º 5.783.208; Ebert *et al.*, Methods for providing testosterone and optionally estrogen replacement therapy to women, patente estadounidense n.º 5.460.820). Se conoce también en la técnica una variedad de sistemas farmacéuticamente aceptables para la administración transmucosa de agentes terapéuticos y son compatibles con la práctica de la presente invención. (Por ejemplo, Heiber *et al.*, Transmucosal delivery of macromolecular drugs, patentes estadounidenses n.ºs 5.346.701 y 5.516.523; Longenecker *et al.*, Transmembrane formulations for drug administration, patente estadounidense n.º 4.994.439).

20 También es útil la administración bucal de las composiciones de la invención. Se conocen en la técnica formulaciones de administración bucal para su uso con péptidos. Por ejemplo, los sistemas de parches o comprimidos conocidos configurados para la administración de fármacos a través de la mucosa oral (por ejemplo, mucosa sublingual) incluyen algunas realizaciones que comprenden una capa interna que contiene el fármaco, un potenciador de la permeación, tal como una sal biliar o fusidato, y un polímero hidrófilo, tal como hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, hidroxietilcelulosa, dextrano, pectina, polivinilpirrolidona, almidón, gelatina o cualquier de varios otros polímeros que se sabe que son útiles para este fin. Esta capa interna puede tener una superficie adaptada para ponerse en contacto y adherirse al tejido mucoso húmedo de la cavidad oral y puede tener una superficie opuesta que se adhiere a una capa inerte no adhesiva superpuesta. Opcionalmente, un sistema de administración transmucosa de este tipo puede estar en forma de un comprimido bicapa, en el que la capa interna también contiene agentes de unión, agentes aromatizantes o cargas adicionales. Algunos sistemas útiles emplean un detergente no iónico junto con un potenciador de la permeación. Los dispositivos de administración transmucosa pueden estar en forma libre, tal como una crema, gel o pomada, o pueden comprender una forma determinada tal como un comprimido, parche o trocisco. Por ejemplo, la administración de la composición de la invención puede ser mediante un sistema de administración transmucosa que comprende un material compuesto laminado de, por ejemplo, una capa adhesiva, una capa de soporte, una membrana permeable que define un depósito que contiene la composición de la invención, un disco autoadhesivo por debajo de la membrana, uno o más sellos térmicos y un revestimiento de liberación desprendible (por ejemplo, Ebert *et al.*, Transdermal delivery system with adhesive overlay and peel seal disc, patente estadounidense n.º 5.662.925; Chang *et al.*, Device for administering an active agent to the skin or mucosa, patentes estadounidenses n.ºs 4.849.224 y 4.983.395). Estos ejemplos son meramente ilustrativos de la tecnología de administración transmucosa de fármacos disponibles y no son limitativos de la presente invención.

40 Dosificaciones. El régimen de dosificación implicado en un método para tratar los estados descritos anteriormente lo determinará el médico encargado, considerando diversos factores que modifican la acción de fármacos, por ejemplo, la edad, el estado, el peso corporal, el sexo y la dieta del paciente, la gravedad de cualquier infección, el momento de administración y otros factores clínicos. Generalmente, el régimen diario debe estar en el intervalo de 0,1-1000 microgramos del compuesto de la invención por kilogramo de peso corporal, preferiblemente 0,1-150 microgramos por kilogramo.

Los siguientes ejemplos de trabajo son ilustrativos.

Ejemplos

Ejemplo 1

Variantes de huFc(IgG1) construidas para expresión bacteriana

50 A modo de ejemplo, se construyeron cuatro variantes del dominio Fc humano (huFc(IgG1)).

1) Se obtuvo huFc(IgG1) con una mutación Q143C (en la posición 143 de SEQ ID NO: 599; designada "cepa 13300") tal como sigue. Se amplificaron dos fragmentos de PCR que introducen la mutación Q143C a partir de un plásmido que codifica para la huFc(IgG1). Se amplificó el primer fragmento de PCR mediante los dos cebadores siguientes:

55 3430-37

GAGGAATAACATATGGACAAAACCTCACACATGTCCACCT (SEQ ID NO: 641), que codifica para los 8 primeros aminoácidos de huFc(IgG1) más una extensión en 5' de 15 nucleótidos que incluye un sitio NdeI; y

4220-28

GGTCAGGCTGACGCAGTTCTTGGTCAG (SEQ ID NO: 642), que codifica para 9 aminoácidos de huFc(IgG1) desde el aminoácido 139º hasta el 147º con el aminoácido 143º mutado desde glutamina hasta cisteína en la orientación de 3'.

5 Se amplificó el segundo fragmento de PCR mediante los dos cebadores siguientes:

4220-27

CTGACCAAGAAGTGCCTCAGCCTGACC (SEQ ID NO: 643), que codifica para 9 aminoácidos de huFc(IgG1) desde el aminoácido 139º hasta el 147º con el aminoácido 143º mutado desde glutamina hasta cisteína en la orientación de 5'.

10 3421-87

CCGCGGCGTCTCGAGATTATTTACCCGGAGACAGGGAGAGGCT (SEQ ID NO: 644), que codifica para los 8 últimos aminoácidos de huFc(IgG1), un codón de terminación y una extensión en 3' de 15 nucleótidos que incluye un sitio XhoI.

15 Se amplificaron de nuevo los 2 fragmentos de PCR con los cebadores 3430-37 y 3421-87. Se clonó el producto de PCR en el vector pAMG21 y se confirmó la secuencia mediante secuenciación de ADN. La cepa de *E. coli* que porta este plásmido se denomina cepa 13300.

La secuencia codificante relevante de la cepa 13300 es:

1 ATGGACAAA CTCACACATG TCCACCTTGC CCAGCACCTG AACTCCTGGG

51 GGGACCGTCA GTTTTCCTCT TCCCCCAA ACCCAAGGAC

20 ACCCTCATGA

101 TCTCCCGGAC CCCTGAGGTC ACATGCGTGG TGGTGGACGT

GAGCCACGAA

151 GACCCTGAGG TCAAGTTCAA CTGGTACGTG GACGGCGTGG

AGGTGCATAA

25 201 TGCCAAGACA AAGCCGCGGG AGGAGCAGTA CAACAGCACG

TACCGTGTGG

251 TCAGCGTCCT CACCGTCCTG CACCAGGACT GGCTGAATGG

CAAGGAGTAC

301 AAGTGCAAGG TCTCCAACAA AGCCCTCCCA GCCCCCATCG

30 AGAAAACCAT

351 CTCAAAGCC AAAGGGCAGC CCCGAGAACC ACAGGTGTAC

ACCCTGCCCC

401 CATCCCGGGA TGAGCTGACC AAGAACTGCG TCAGCCTGAC

CTGCCTGGTC

35 451 AAAGGCTTCT ATCCCAGCGA CATCGCCGTG GAGTGGGAGA

GCAATGGGCA

501 GCCGGAGAAC AACTACAAGA CCACGCCTCC CGTGCTGGAC

TCCGACGGCT

551 CTTTCTTCT CTACAGCAAG CTCACCGTGG ACAAGAGCAG

40 GTGGCAGCAG

601 GGGAACGTCT TCTCATGCTC CGTGATGCAT GAGGCTCTGC
ACAACCACTA

651 CACGCAGAAG AGCCTCTCCC TGTCTCCGGG TAAATAAT//SEQ ID NO: 645

La traducción de esta secuencia de nucleótido es tal como sigue:

5 Cepa 13300 (huFc(IgG1)Q 143 C):

1 MDKTHTCPPE PPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV
TCVVVDVSHE

51 DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL
HQDWLNGKEY

10 101 KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDEL
KNCVSLTCLV

151 KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK
LTVDKSRWQQ

201 GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK// (SEQ ID NO: 646).

15 2) Se obtuvo huFc(IgG1) con una mutación L139C (en la posición 139 de SEQ ID NO: 599; designada "cepa 13322") siguiendo procedimientos similares a los descritos en (1) anteriormente usando los siguientes cebadores y procedimientos.

Se amplificó el primer fragmento de PCR mediante los dos cebadores siguientes:

3430-37

20 GAGGAATAACATATGGACAAAACACTCACACATGTCCACCT (SEQ ID NO: 641), que codifica para los 8 primeros aminoácidos de huFc(IgG1) más una extensión en 5' de 15 nucleótidos que incluye un sitio NdeI y

4220-26

25 CTGGTTCTTGGTGCACACTCATCCCGGGA (SEQ ID NO: 647), que codifica para 9 aminoácidos de huFc(IgG1) desde el aminoácido 135º hasta el 143º con el aminoácido 138º mutado desde leucina hasta cisteína en la orientación de 3'.

Se amplificó el segundo fragmento de PCR mediante los dos cebadores siguientes:

4220-25

30 TCCCGGGATGAGTGACCAAGAACCAG (SEQ ID NO: 648), que codifica para 9 aminoácidos de huFc(IgG1) desde el aminoácido 135º hasta el 143º con el aminoácido 138º mutado desde leucina hasta cisteína en la orientación de 5'.

3421-87

35 CCGCGGCGTCTCGAGATTATTTACCCGGAGACAGGGAGAGGCT (SEQ ID NO: 644), que codifica para los 8 últimos aminoácidos de huFc(IgG1), un codón de terminación y una extensión en 3' de 15 nucleótidos que incluye un sitio XhoI. Se amplificaron de nuevo los 2 fragmentos de PCR con los cebadores 3430-37 y 3421-87. Se clonó el producto de PCR en el vector pAMG21 y se confirmó la secuencia mediante secuenciación de ADN. La cepa de *E. coli* que porta este plásmido se denomina cepa 13322.

La secuencia codificante relevante de la cepa 13322 es:

1 ATGGACAAAA CTCACACATG TCCACCTTGC CCAGCACCTG
AACTCCTGGG
51 GGGACCGTCA GTTTTCCTCT TCCCCC AAA ACCCAAGGAC
ACCCTCATGA
101 TCTCCCGGAC CCCTGAGGTC ACATGCGTGG TGGTGGACGT
GAGCCACGAA
151 GACCCTGAGG TCAAGTTTAA CTGGTACGTG GACGGCGTGG
AGGTGCATAA
201 TGCCAAGACA AAGCCGCGGG AGGAGCAGTA CAACAGCACG
TACCGTGTGG
251 TCAGCGTCCT CACCGTCCTG CACCAGGACT GGCTGAATGG
CAAGGAGTAC
301 AAGTGCAAGG TCTCCAACAA AGCCCTCCCA GCCCCCATCG
AGAAAACCAT
351 CTCCAAAGCC AAAGGGCAGC CCCGAGAACC ACAGGTGTAC
ACCCTGCCCC
401 CATCCCGGGA TGAGTGCACC AAGAACCAGG TCAGCCTGAC
CTGCCTGGTC
451 AAAGGCTTCT ATCCCAGCGA CATCGCCGTG GAGTGGGAGA
GCAATGGGCA
501 GCCGGAGAAC AACTACAAGA CCACGCCTCC CGTGCTGGAC
TCCGACGGCT
551 CCTTCTTCTTCT CTACAGCAAG CTCACCGTGG ACAAGAGCAG
GTGGCAGCAG
601 GGGAACGTCT TCTCATGCTC CGTGATGCAT GAGGCTCTGC
ACAACCACTA
651 CACGCAGAAG AGCCTCTCCC TGTCTCCGGG TAAATAAT// SEQ ID
NO: 649.

La traducción de esta secuencia de nucleótido es tal como sigue:

Cepa 13322 (huFc(IgG1)L139C):

1 MDKTHTCPPC PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV
TCVVVDVSHE
51 DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL
HQDWLNGKEY

101 KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY.TLPPSRDECT
KNQVSLTCLV

151 KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK
LTVDKSRWQQ

201 GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK//(SEQ ID NO: 650).

3) Se obtuvo huFc(IgG1) con una mutación S145C (en la posición 145 de SEQ ID NO: 599; designada "cepa 13323") siguiendo procedimientos similares a los descritos en (1) anteriormente usando los siguientes cebadores y procedimientos. Se amplificó el primer fragmento de PCR mediante los dos cebadores siguientes:

5 3430-37

GAGGAATAACATATGGACAAAACCTCACACATGTCCACCT (SEQ ID NO: 641) que codifica para los 8 primeros aminoácidos de huFc(IgG1) más una extensión en 5' de 15 nucleótidos que incluye un sitio NdeI y

4220-30

10 CAGGCAGGTCAGGCAGACCTGGTTCTT (SEQ ID NO: 651), que codifica para los 9 aminoácidos de huFc(IgG1) desde el aminoácido 141º hasta el 149º con el aminoácido 145º mutado desde serina hasta cisteína en la orientación de 3'.

Se amplificó el segundo fragmento de PCR mediante los dos cebadores siguientes:

4220-29

15 AAGAACCAGGTCTGCCTGACCTGCCTG (SEQ ID NO: 652), que codifica para los 9 aminoácidos de huFc(IgG1) desde el aminoácido 141º hasta el 149º con el aminoácido 145º mutado desde serina hasta cisteína en la orientación de 5'.

3421-87

20 CCGCGGCGTCTCGAGATTATTTACCCGGAGACAGGGAGAGGCT (SEQ ID NO: 644), que codifica para los 8 últimos aminoácidos de huFc(IgG1), un codón de terminación y una extensión en 3' de 15 nucleótidos que incluye un sitio XhoI. Se amplificaron de nuevo los 2 fragmentos de PCR con los cebadores 3430-37 y 3421-87. Se clonó el producto de PCR en el vector pAMG21 y se confirmó la secuencia mediante secuenciación de ADN. La cepa de *E. coli* que porta este plásmido se denomina cepa 13323.

La secuencia codificante relevante de la cepa 13323 es:

1 ATGGACAAAA CTCACACATG TCCACCTTGC CCAGCACCTG
AACTCCTGGG
51 GGGACCGTCA GTTTTCCTCT TCCCCCAA AAA ACCCAAGGAC
ACCCTCATGA
101 TCTCCCGGAC CCCTGAGGTC ACATGCGTGG TGGTGGACGT
GAGCCACGAA
151 GACCCTGAGG TCAAGTTCAA CTGGTACGTG GACGGCGTGG
AGGTGCATAA
201 TGCCAAGACA AAGCCGCGGG AGGAGCAGTA CAACAGCACG
TACCGTGTGG
251 TCAGCGTCCT CACCGTCCTG CACCAGGACT GGCTGAATGG
CAAGGAGTAC
301 AAGTGCAAGG TCTCCAACAA AGCCCTCCCA GCCCCCATCG
AGAAAACCAT
351 CTCCAAAGCC AAAGGGCAGC CCCGAGAACC ACAGGTGTAC
ACCCTGCCCC
401 CATCCCGGGA TGAGCTGACC AAGAACCAGG TCTGCCTGAC
CTGCCTGGTC
451 AAAGGCTTCT ATCCCAGCGA CATCGCCGTG GAGTGGGAGA
GCAATGGGCA
501 GCCGGAGAAC AACTACAAGA CCACGCCTCC CGTGCTGGAC
TCCGACGGCT
551 CCTTCTTCT CTACAGCAAG CTCACCGTGG ACAAGAGCAG
GTGGCAGCAG
601 GGGAACGTCT TTCATGCTC CGTGATGCAT GAGGCTCTGC
ACAACCACTA
651 CACGCAGAAG AGCCTCTCCC TGTCTCCGGG TAAATAAT// SEQ ID
NO: 653

La traducción de esta secuencia es tal como sigue:

Cepa 13323 (huFc(IgG1)S145C):

1 MDKTHTCPPC PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTP EV
TCVVVDVSHE

51 ·DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL
HQDWLNGKEY

101 KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDEL T
KNQVCLTCLV

151 KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK
LTVDKSRWQQ

201 GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK//(SEQ ID NO: 654).

4) Se obtuvo huFc(IgG1) con una mutación S196C (en la posición 196 de SEQ ID NO: 599; designada "cepa 13324") siguiendo procedimientos similares a los descritos anteriormente en (1) usando los siguientes cebadores y procedimientos. Se amplificó el primer fragmento de PCR mediante los dos cebadores siguientes:

5 3430-37

GAGGAATAACATATGGACAAAACCTCACACATGTCCACCT (SEQ ID NO: 641), que codifica para los 8 primeros aminoácidos de huFc(IgG1) más una extensión en 5' de 15 nucleótidos que incluye un sitio NdeI y

4220-32

10 CTGCTGCCACCTGCACTTGTCCACGGT (SEQ ID NO: 655), que codifica para 9 aminoácidos de huFc(IgG1) desde el aminoácido 192º hasta el 200º con el aminoácido 196º mutado desde serina hasta cisteína en la orientación de 3'.

Se amplificó el segundo fragmento de PCR mediante los dos cebadores siguientes:

4220-31

15 ACCGTGGACAAGTGCAGGTGGCAGCAG (SEQ ID NO: 656), que codifica para 9 aminoácidos de huFc(IgG1) desde el aminoácido 192º hasta el 200º con el aminoácido 196º mutado desde serina hasta cisteína en la orientación de 5'.

3421-87

20 CCGCGGCGTCTCGAGATTATTTACCCGGAGACAGGGAGAGGCT (SEQ ID NO: 644), que codifica para los 8 últimos aminoácidos de huFc(IgG1), un codón de terminación y una extensión en 3' de 15 nucleótidos que incluye un sitio XhoI. Se amplificaron de nuevo los 2 fragmentos de PCR con los cebadores 3430-37 y 3421-87. Se clonó el producto de PCR en el vector pAMG21 y se confirmó la secuencia mediante secuenciación de ADN. La cepa de *E. coli* que porta este plásmido se denomina cepa 13324.

La secuencia codificante relevante de la cepa 13324 es:

1 ATGGACAAAA CTCACACATG TCCACCTTGC CCAGCACCTG AACTCCTGGG
51 GGGACCGTCA GTTTTCCTCT TCCCCCAA ACCCAAGGAC
ACCCTCATGA
101 TCTCCCGGAC CCCTGAGGTC ACATGCGTGG TGGTGGACGT
GAGCCACGAA
151 GACCCTGAGG TCAAGTTCAA CTGGTACGTG GACGGCGTGG
AGGTGCATAA
201 TGCCAAGACA AAGCCGCGGG AGGAGCAGTA CAACAGCACG
TACCGTGTGG
251 TCAGCGTCCT CACCGTCCTG CACCAGGACT GGCTGAATGG
CAAGGAGTAC
301 AAGTGCAAGG TCTCCAACAA AGCCCTCCA GCCCCATCG
AGAAAACCAT
351 CTCCAAAGCC AAAGGGCAGC CCCGAGAACC ACAGGTGTAC
ACCCTGCCCC
401 CATCCCGGGA TGAGCTGACC AAGAACCAGG TCAGCCTGAC
CTGCCTGGTC
451 AAAGGCTTCT ATCCAGCGA CATCGCCGTG GAGTGGGAGA
GCAATGGGCA
501 GCCGGAGAAC AACTACAAGA CCACGCCTCC CGTGCTGGAC
TCCGACGGCT
551 CCTTCTTCT CTACAGCAAG CTCACCGTGG ACAAGTGCAG
GTGGCAGCAG
601 GGAACGTCT TTCATGCTC CGTGATGCAT GAGGCTCTGC
ACAACCACTA
651 CACGCAGAAG AGCCTCTCCC TGTCTCCGGG TAAATAAT//SEQ ID NO: 657

La traducción de esta secuencia de nucleótido es tal como sigue:

Cepa 13324 (huFC(IgG1)S196C):

1 MDKTHTCPPC PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV
TCVVVDVSHE
51 DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL
HQDWLNGKEY
101 KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDEL
KNQVSLTCLV
151 KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK
LTVDKCRWQQ
5 201 GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK//(SEQ ID NO: 658).

Ejemplo 2

Purificación de análogos de Fc-cisteína

5 Se transformaron en *E. coli* los clones de ADNc construidos tal como se describe en el ejemplo 1 anteriormente en el presente documento: cepa 13300 (huFc(IgG1)Q143C), cepa 13322 (huFc(IgG1)L139C), cepa 13323 (huFc(IgG1)S145C) y cepa 13324 (huFc(IgG1)S196C) y se expresaron en cuerpos de inclusión. Se resuspendieron pastas celulares de cada cepa en 10 ml de agua/g de pasta, se lisaron mediante tres pases a través de un microfluidizador y se recogió la fracción de cuerpo de inclusión (IB) insoluble mediante centrifugación. Posteriormente se lavaron los IB con desoxicolato al 1%, se centrifugaron y se lavaron de nuevo con agua. El sedimento final de cuerpos de inclusión lavados con desoxicolato (DWIB) se pesó y se congeló a -80°C.

10 Los DWIB congelados, procedentes de cada clon, se congelaron entonces y se resuspendieron en 1 ml de agua/g de DWIB, luego se solubilizaron y se redujeron mediante la adición de 9 ml de Gdn-HCl tamponado 8 M, DTT 11 mM. La solubilización continuó a temperatura ambiente, con agitación, durante 1 hora.

Cada análogo de huFc-cisteína se volvió a plegar después mediante dilución rápida (20 veces) de los DWIB solubilizados en un tampón de replegamiento que consiste en urea 2 M, arginina 150 mM, Tris 50 mM, cisteína 1 mM, cistamina 3 mM, pH 8,5. Se permitió que la reacción de replegamiento continuase durante 48-72 horas con agitación suave a 4°C.

15 La purificación de los análogos de huFc-cisteína comenzó mediante cromatografía en columna de afinidad usando resina de selección con AcM (GE Healthcare, Piscataway, NJ). Brevemente, la reacción de replegamiento se aclaró mediante centrifugación seguido de filtración a 0,45 micrómetros. El replegamiento filtrado se cargó entonces en una columna de selección con AcM preequilibrada en PBS. Tras la carga, la columna se lavó adicionalmente con 3 volúmenes de columna de PBS, luego se eluyó con ácido acético 0,1 N. La fracción de proteína que se eluyó con ácido de la columna de selección con AcM se dializó inmediatamente en NaOAc 10 mM, NaCl 50 mM, pH 5,0.

20 Se logró la purificación adicional mediante cromatografía de intercambio catiónico usando resina SP Sepharose HP (GE Healthcare, Piscataway, NJ). Brevemente, tras la diálisis, la reserva eluida mediante selección con AcM se cargó en la columna de intercambio iónico, se preequilibró en NaOAc 10 mM, NaCl 50 mM, pH 5,0, se lavó con 3 volúmenes de columna de tampón de equilibrio, luego se eluyó con un gradiente lineal de NaCl 50-500 mM. Se evaluaron los picos eluidos mediante SDS-PAGE y se reunieron y concentraron los picos que contenían proteína de aproximadamente 51 kD. Las reservas concentradas se dializaron entonces en PBS y se determinaron las concentraciones mediante espectroscopía usando coeficientes de extinción calculados.

25 Se analizaron las reservas finales mediante SDS-PAGE, SEC-HPLC, RP-HPLC y CL-EM. La figura 5 muestra la pureza obtenida mediante gel de SDS-PAGE de los 4 análogos de huFc-cisteína purificados. La figura 6 muestra la pureza del clon 13324 huFCS196C mediante SEC-HPLC. La figura 7 muestra las determinaciones de masa y pureza del clon 13324 huFc(S196C) mediante CL-EM. La masa adicional observada concuerda con aductos de cistamina transmitidos desde la reacción de replegamiento. El diferencial de masa observado desaparece cuando las muestras se reducen antes de los análisis de CL-EM, lo que indica adicionalmente que está presente un aducto de disulfuro mixto.

35 Ejemplo 3

Conjugación de polietilenglicol (PEG) con análogos de Fc-cisteína

40 Se seleccionó el análogo de huFc (S196C), clon n.º 13324, como representativo de los análogos de huFc-cisteína producidos, tal como se describió en el ejemplo 2 en el presente documento anteriormente, con el propósito de desarrollar un proceso de conjugación selectivo de sitio para los análogos de Fc-cisteína. Puesto que los análisis de CL-EM de los análogos de huFc-cisteína purificados indicaban la presencia de disulfuros mixtos con aductos de bajo peso molecular, se emprendió una etapa de reducción limitada antes de la conjugación. Esto fue seguido por PEGilación específica de tiol para evaluar el grado y la selectividad del sitio de conjugación en la cisteína modificada por ingeniería genética.

45 Brevemente, el análogo de huFc (S196C) descrito en el ejemplo 2 se redujo parcialmente mediante titulación con clorhidrato de tris(2-carboxietilfosfina) (TCEP) a partir de estequiometrías en exceso de 0-5 molar en relación con la concentración de cisteína modificada por ingeniería genética. Se incubó la reacción de reducción durante 2 horas, a temperatura ambiente, en fosfato de sodio 50 mM, EDTA 5 mM, pH 6,0 a una concentración de proteínas de 1 mg/ml. Se eliminaron el TCEP y el aducto reducido mediante filtración en gel usando columnas de centrifugación para desalado Zebra desechables (Pierce, Rockford, IL) equilibradas en fosfato de sodio 50 mM, EDTA 5 mM, pH 6,0. Se hizo reaccionar entonces la proteína reducida eluida de la filtración en gel con mPEG-maleimida de 20 kD (Nektar Inc., Huntsville, AL) en un exceso molar de 2 veces sobre la concentración de cisteína modificada por ingeniería genética. Se permitió que la reacción de PEGilación continuara durante la noche, a temperatura ambiente. Se determinó el grado de modificación mediante SDS-PAGE (figura 8A y figura 8B) y mediante SEC-HPLC (figura 9).

55 A continuación, se amplió a escala la reacción de PEGilación usando una razón molar de 1:1,25 de cisteína modificada por ingeniería genética con respecto a TCEP y se purificó el análogo de PEG-huFc(S196C) mediante cromatografía de intercambio catiónico. Se logró la purificación con una columna de SP Sepharose HP (GE Healthcare, Piscataway, NJ) equilibrada en acetato de sodio 20 mM, pH 4,0 y se eluyó con un gradiente lineal de

5 cloruro de sodio 0-0,5 M. Se evaluaron los picos eluidos mediante SDS-PAGE y SEC-LS y se reunieron y concentraron basándose en el tamaño. La figura 9 muestra el resultado de SEC-LS que identifica el conjugado PEG-huFc(S196C) aislado, lo que demuestra una masa que concuerda con dos moléculas de PEG de 20 kD conjugadas con un dímero de Fc (~53 kD). El mapeo de péptidos posterior confirmó Cys196 como el sitio de PEGilación en esta reserva.

Abreviaturas

Las abreviaturas usadas en toda esta memoria descriptiva son tal como se definen a continuación, a menos que se definan de otra forma en circunstancias específicas.

	Ac	acetilo (usado para referirse a residuos acetilados)
10	AcBpa	p-benzoil-L-fenilalanina acetilada
	ADCC	citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos
	Aib	ácido aminoisobutírico
	bA	beta-alanina
	Bpa	p-benzoil-L-fenilalanina
15	BrAc	bromoacetilo (BrCH ₂ C(O))
	BSA	albúmina sérica bovina
	Bzl	bencilo
	Cap	ácido caproico
	CT	linfocitos T citotóxicos
20	CTLA4	antígeno 4 asociado a linfocitos T citotóxicos
	DARC	receptor del antígeno de grupo sanguíneo Duffy
	DCC	diciclohexilcarbodiimida
	Dde	1-(4,4-dimetil-2,6-dioxo-ciclohexiliden)etilo
	EDTA	ácido etilendiaminotetracético
25	EMP	péptido mimético de eritropoyetina
	EM-ESI	espectrometría de masa de ionización por electrospray
	EPO	eritropoyetina
	Fmoc	fluorenilmetoxicarbonilo
	G-CSF	factor estimulador de colonias de granulocitos
30	GH	hormona de crecimiento
	HCT	hematocrito
	HGB	hemoglobina
	hGH	hormona de crecimiento humana
	HOBt	1-hidroxibenzotriazol
35	HPLC	cromatografía de líquidos de alta resolución
	IL	interleucina
	IL-R	receptor de interleucina
	IL-IR	receptor de interleucina-1
	IL-Ira	antagonista del receptor de interleucina-1

	Lau	ácido láurico
	LPS	lipopolisacárido
	LYMPH	linfocitos
	MALDI-EM	espectrometría de masas de ionización por desorción láser asistida por matriz
5	Me	metilo
	MeO	metoxilo
	MHC	complejo mayor de histocompatibilidad
	MMP	metaloproteinasa de la matriz
	MMPI	inhibidor de metaloproteinasa de la matriz
10	1-Nap	1-naptilalanina
	NEUT	neutrófilos
	NGF	factor de crecimiento nervioso
	Nle	norleucina
	NMP	N-metil-2-pirrolidinona
15	PAGE	electroforesis en gel de poliacrilamida
	PBS	solución salina tamponada con fosfato
	Pbf	2,2,4,6,7-pendametildihidrobenzofuran-5-sulfonilo
	PCR	reacción en cadena de la polimerasa
	Pec	ácido pipecólico
20	PEG	Poli(etilenglicol)
	pGlu	ácido piroglutámico
	Pic	ácido picolínico
	PLT	plaquetas
	pY	fosfotirosina
25	PTFE	politetrafluoroetileno
	RBC	glóbulos rojos
	RBS	sitio de unión al ribosoma
	RP-HPLC	HPLC en fase inversa
	TA	temperatura ambiente (25°C)
30	Sar	sarcosina
	SDS	dodecilsulfato sódico
	STK	serina-treonina cinasas
	t-Boc	terc-butoxicarbonilo
	tBu	terc-butilo
35	TGF	factor de crecimiento tisular
	THF	factor humoral tímico
	TK	tirosina cinasa

	TMP	péptido mimético de trombopoyetina
	TNF	factor de necrosis tisular
	TPO	trombopoyetina
	TRAIL	ligando inductor de apoptosis relacionado con el TNF
5	Trt	tritilo
	UK	urocinasa
	UKR	receptor de urocinasa
	VEGF	factor de crecimiento celular vascular endotelial
	VIP	péptido intestinal vasoactivo
10	WBC	glóbulos blancos

Lista de secuencias

- <110> Amgen Inc.
- 5 <120> MOLÉCULAS Fc MODIFICADAS
- <130> Documento A-1037 PCT
- <140> No asignado todavía
- 10 <141> 11-08-2006
- <150> Documento 60/707.842
- <151> 12-08-2005
- 15 <150> No asignado todavía-EE.UU.
- <151> 10-08-2006
- <160> 658
- 20 <170> PatentIn versión 3.3
- <210> 1
- <211> 14
- <212> PRT
- 25 <213> Secuencia artificial
- <220>
- <223> Secuencia de péptido mimético de EPO
- 30 <220>
- <221> MISC_FEATURE
- <222> (2) .. (2)
- <223> Xaa es cualquier aminoácido
- 35 <220>
- <221> MISC_FEATURE
- <222> (4) .. (5)
- <223> Xaa es cualquier aminoácido
- 40 <220>
- <221> MISC_FEATURE
- <222> (8) .. (8)
- <223> Xaa es cualquier aminoácido
- 45 <220>
- <221> MISC_FEATURE
- <222> (11) .. (11)
- <223> Xaa es cualquier aminoácido
- 50 <220>
- <221> MISC_FEATURE
- <222> (13) .. (13)
- <223> Xaa es cualquier aminoácido
- <400> 1
- 55 **Tyr Xaa Cys Xaa Xaa Gly Pro Xaa Thr Trp Xaa Cys Xaa Pro**
- 1 5 10**
- <210> 2
- <211> 20
- <212> PRT
- 60 <213> Secuencia artificial
- <220>

ES 2 399 618 T3

<223> Secuencia de péptido mimético de EPO

<400> 2

Gly Gly Thr Tyr Ser Cys His Phe Gly Pro Leu Thr Trp Val Cys Lys
1 5 10 15

Pro Gln Gly Gly
20

5

<210> 3

<211> 20

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

10

<220>

<223> Secuencia de péptido mimético de EPO

<400> 3

Gly Gly Asp Tyr His Cys Arg Met Gly Pro Leu Thr Trp Val Cys Lys
1 5 10 15

Pro Leu Gly Gly
20

15

<210> 4

<211> 20

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20

<220>

<223> Secuencia de péptido mimético de EPO

25

<400> 4

Gly Gly Val Tyr Ala Cys Arg Met Gly Pro Ile Thr Trp Val Cys Ser
1 5 10 15

Pro Leu Gly Gly
20

30

<210> 5

<211> 20

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

35

<220>

<223> Secuencia de péptido mimético de EPO

40

<400> 5

Val Gly Asn Tyr Met Cys His Phe Gly Pro Ile Thr Trp Val Cys Arg
1 5 10 15

Pro Gly Gly Gly
20

40

<210> 6

<211> 20

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de péptido mimético de EPO

5 <400> 6
 Gly Gly Leu Tyr Leu Cys Arg Phe Gly Pro Val Thr Trp Asp Cys Gly
 1 5 10 15

Tyr Lys Gly Gly
 20

<210> 7
<211> 23
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Secuencia de péptido mimético de EPO

15 <400> 7
 Gly Gly Thr Tyr Ser Cys His Phe Gly Pro Leu Thr Trp Val Cys Lys
 1 5 10 15

Pro Gln Gly Gly Ser Ser Lys
 20

<210> 8
<211> 19
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Secuencia de péptido mimético de EPO

25 <400> 8
 Gly Gly Thr Tyr Ser Cys His Gly Pro Leu Thr Trp Val Cys Lys Pro
 1 5 10 15

Gln Gly Gly

<210> 9
<211> 19
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

30 <220>
<223> Secuencia de péptido mimético de EPO

35 <400> 9
 Val Gly Asn Tyr Met Ala His Met Gly Pro Ile Thr Trp Val Cys Arg
 1 5 10 15

Pro Gly Gly

40 <210> 10
<211> 18
<212> PRT

ES 2 399 618 T3

<213> Secuencia artificial
<220>
<223> Secuencia de péptido mimético de EPO
5
<400> 10
Gly Gly Pro His His Val Tyr Ala Cys Arg Met Gly Pro Leu Thr Trp
1 5 10 15

Ile Cys

<210> 11
<211> 18
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
15 <223> Secuencia de péptido mimético de EPO

<400> 11
Gly Gly Thr Tyr Ser Cys His Phe Gly Pro Leu Thr Trp Val Cys Lys
1 5 10 15

Pro Gln

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

<220>
25 <223> Secuencia de péptido mimético de EPO

<400> 12
Gly Gly Leu Tyr Ala Cys His Met Gly Pro Met Thr Trp Val Cys Gln
1 5 10 15

Pro Leu Arg Gly

<210> 13
<211> 22
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
35 <223> Secuencia de péptido mimético de EPO

<400> 13
Thr Ile Ala Gln Tyr Ile Cys Tyr Met Gly Pro Glu Thr Trp Glu Cys
1 5 10 15

Arg Pro Ser Pro Lys Ala
20

<210> 14
<211> 13

<212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <223> Secuencia de péptido mimético de EPO

<400> 14

Tyr Ser Cys His Phe Gly Pro Leu Thr Trp Val Cys Lys
 1 5 10

10 <210> 15
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223> Secuencia de péptido mimético de EPO

<400> 15

Tyr Cys His Phe Gly Pro Leu Thr Trp Val Cys
 1 5 10

20 <210> 16
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223> Secuencia de péptido mimético de EPO

<400> 16

Gly Gly Leu Tyr Leu Cys Arg Phe Gly Pro Val Thr Trp Asp Cys Gly
 1 5 10 15

Tyr Lys Gly Gly

30 <210> 17
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

35 <220>
 <223> Secuencia de péptido mimético de EPO

40 <400> 17

Gly Gly Thr Tyr Ser Cys His Phe Gly Pro Leu Thr Trp Val Cys Lys
 1 5 10 15

Pro Gln Gly Gly
 20

45 <210> 18
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

ES 2 399 618 T3

<220>

<223> Secuencia de péptido mimético de EPO

5 <400> 18

Gly Gly Asp Tyr His Cys Arg Met Gly Pro Leu Thr Trp Val Cys Lys
1 5 10 15

Pro Leu Gly Gly
20

<210> 19

<211> 20

10 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia de péptido mimético de EPO

15

<400> 19

Val Gly Asn Tyr Met Cys His Phe Gly Pro Ile Thr Trp Val Cys Arg
1 5 10 15

Pro Gly Gly Gly
20

<210> 20

20 <211> 20

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

25 <223> Secuencia de péptido mimético de EPO

<400> 20

Gly Gly Val Tyr Ala Cys Arg Met Gly Pro Ile Thr Trp Val Cys Ser
1 5 10 15

Pro Leu Gly Gly
20

30 <210> 21

<211> 19

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

35 <220>

<223> Secuencia de péptido mimético de EPO

<400> 21

Val Gly Asn Tyr Met Ala His Met Gly Pro Ile Thr Trp Val Cys Arg
1 5 10 15

Pro Gly Gly

40

<210> 22

<211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <223> Secuencia de péptido mimético de EPO

<400> 22
 Gly Gly Thr Tyr Ser Cys His Phe Gly Pro Leu Thr Trp Val Cys Lys
 1 5 10 15

Pro Gln

10 <210> 23
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223> Secuencia de péptido mimético de EPO

<400> 23
 Gly Gly Leu Tyr Ala Cys His Met Gly Pro Met Thr Trp Val Cys Gln
 1 5 10 15

Pro Leu Arg Gly
 20

20 <210> 24
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223> Secuencia de péptido mimético de EPO

30 <400> 24
 Thr Ile Ala Gln Tyr Ile Cys Tyr Met Gly Pro Glu Thr Trp Glu Cys
 1 5 10 15

Arg Pro Ser Pro Lys Ala
 20

35 <210> 25
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Secuencia de péptido mimético de EPO

<400> 25
 Tyr Ser Cys His Phe Gly Pro Leu Thr Trp Val Cys Lys
 1 5 10

<210> 26

<211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <223> Secuencia de péptido mimético de EPO

<400> 26

Tyr Cys His Phe Gly Pro Leu Thr Trp Val Cys
 1 5 10

10 <210> 27
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223> Secuencia de péptido mimético de EPO

<400> 27

Ser Cys His Phe Gly Pro Leu Thr Trp Val Cys Lys
 1 5 10

20 <210> 28
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223> Secuencias de péptidos miméticos de TPO

30 <400> 28
 Ile Glu Gly Pro Thr Leu Arg Gln Trp Leu Ala Ala Arg Ala
 1 5 10

35 <210> 29
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Secuencias de péptidos miméticos de TPO

<400> 29

Ile Glu Gly Pro Thr Leu Arg Gln Trp Leu Ala Ala Lys Ala
 1 5 10

45 <210> 30
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

50 <220>
 <223> Secuencias de péptidos miméticos de TPO

<400> 30

Ile Glu Gly Pro Thr Leu Arg Glu Trp Leu Ala Ala Arg Ala
 1 5 10

- <210> 31
 <211> 6
 <212> PRT
 5 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Secuencias de péptidos miméticos de TPO

 10 <400> 31
 Thr Leu Arg Glu Trp Leu
 1 5

 <210> 32
 <211> 10
 15 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Secuencias de péptidos miméticos de TPO

 20 <400> 32
 Gly Arg Val Arg Asp Gln Val Ala Gly Trp
 1 5 10

 25 <210> 33
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 30 <220>
 <223> Secuencias de péptidos miméticos de TPO

 <400> 33
 Gly Arg Val Lys Asp Gln Ile Ala Gln Leu
 1 5 10

 35 <210> 34
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 40 <220>
 <223> Secuencias de péptidos miméticos de TPO

 <400> 34
 Gly Val Arg Asp Gln Val Ser Trp Ala Leu
 1 5 10

 45 <210> 35
 <211> 10
 <212> PRT
 50 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Secuencias de péptidos miméticos de TPO

 55 <400> 35

Glu Ser Val Arg Glu Gln Val Met Lys Tyr
 1 5 10

5 <210> 36
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Secuencias de péptidos miméticos de TPO

<400> 36

Ser Val Arg Ser Gln Ile Ser Ala Ser Leu
 1 5 10

15 <210> 37
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Secuencias de péptidos miméticos de TPO

<400> 37

Gly Val Arg Glu Thr Val Tyr Arg His Met
 1 5 10

25 <210> 38
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Secuencias de péptidos miméticos de TPO

<400> 38

Gly Val Arg Glu Val Ile Val Met His Met Leu
 1 5 10

35 <210> 39
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Secuencias de péptidos miméticos de TPO

<400> 39

Gly Arg Val Arg Asp Gln Ile Trp Ala Ala Leu
 1 5 10

45 <210> 40
 <211> 11
 <212> PRT
 50 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencias de péptidos miméticos de TPO

<400> 40

Ala Gly Val Arg Asp Gln Ile Leu Ile Trp Leu
 1 5 10

5

<210> 41

<211> 11

<212> PRT

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencias de péptidos miméticos de TPO

15 <400> 41

Gly Arg Val Arg Asp Gln Ile Met Leu Ser Leu
 1 5 10

<210> 42

<211> 10

20 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencias de péptidos miméticos de TPO

25 <400> 42

Cys Thr Leu Arg Gln Trp Leu Gln Gly Cys
 1 5 10

<210> 43

30 <211> 10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

35 <223> Secuencias de péptidos miméticos de TPO

<400> 43

Cys Thr Leu Gln Glu Phe Leu Glu Gly Cys
 1 5 10

<210> 44

40 <211> 10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

45 <223> Secuencias de péptidos miméticos de TPO

<400> 44

Cys Thr Arg Thr Glu Trp Leu His Gly Cys
 1 5 10

50 <210> 45

<211> 12

<212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <223> Secuencias de péptidos miméticos de TPO

<400> 45
 Cys Thr Leu Arg Glu Trp Leu His Gly Gly Phe Cys
 1 5 10

10 <210> 46
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223> Secuencias de péptidos miméticos de TPO

<400> 46
 Cys Thr Leu Arg Glu Trp Val Phe Ala Gly Leu Cys
 1 5 10

20 <210> 47
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223> Secuencias de péptidos miméticos de TPO

<400> 47
 Cys Thr Leu Arg Gln Trp Leu Ile Leu Leu Gly Met Cys
 1 5 10

30 <210> 48
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

35 <220>
 <223> Secuencias de péptidos miméticos de TPO

40 <400> 48
 Cys Thr Leu Ala Glu Phe Leu Ala Ser Gly Val Glu Gln Cys
 1 5 10

45 <210> 49
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

50 <220>
 <223> Secuencias de péptidos miméticos de TPO

<400> 49
 Cys Ser Leu Gln Glu Phe Leu Ser His Gly Gly Tyr Val Cys
 1 5 10

ES 2 399 618 T3

<210> 50
<211> 14
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
5
<220>
<223> Secuencias de péptidos miméticos de TPO
<400> 50
Cys Thr Leu Arg Glu Phe Leu Asp Pro Thr Thr Ala Val Cys
1 5 10
10
<210> 51
<211> 14
<212> PRT
15 <213> Secuencia artificial
<220>
<223> Secuencias de péptidos miméticos de TPO
20 <400> 51
Cys Thr Leu Lys Glu Trp Leu Val Ser His Glu Val Trp Cys
1 5 10
25 <210> 52
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> Secuencias de péptidos miméticos de TPO
30 <400> 52
Arg Glu Gly Pro Thr Leu Arg Gln Trp Met
1 5 10
35 <210> 53
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
<220>
40 <223> Secuencias de péptidos miméticos de TPO
<400> 53
Glu Gly Pro Thr Leu Arg Gln Trp Leu Ala
1 5 10
45 <210> 54
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
50 <220>
<223> Secuencias de péptidos miméticos de TPO
<400> 54

Glu Arg Gly Pro Phe Trp Ala Lys Ala Cys
 1 5 10

5 <210> 55
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Secuencias de péptidos miméticos de TPO
 <400> 55

Arg Glu Gly Pro Arg Cys Val Met Trp Met
 1 5 10

15 <210> 56
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Secuencias de péptidos miméticos de TPO
 <400> 56

Cys Gly Thr Glu Gly Pro Thr Leu Ser Thr Trp Leu Asp Cys
 1 5 10

25 <210> 57
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Secuencias de péptidos miméticos de EPO
 <400> 57

Cys Glu Gln Asp Gly Pro Thr Leu Leu Glu Trp Leu Lys Cys
 1 5 10

35 <210> 58
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Secuencias de péptidos miméticos de TPO
 <400> 58

Cys Glu Leu Val Gly Pro Ser Leu Met Ser Trp Leu Thr Cys
 1 5 10

45 <210> 59
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

50 <220>
 <223> Secuencias de péptidos miméticos de TPO

<400> 59

Cys Leu Thr Gly Pro Phe Val Thr Gln Trp Leu Tyr Glu Cys
 1 5 10

<210> 60

5

<211> 14

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10

<223> Secuencias de péptidos miméticos de TPO

<400> 60

Cys Arg Ala Gly Pro Thr Leu Leu Glu Trp Leu Thr Leu Cys
 1 5 10

15

<210> 61

<211> 14

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20

<220>

<223> Secuencias de péptidos miméticos de TPO

<400> 61

Cys Ala Asp Gly Pro Thr Leu Arg Glu Trp Ile Ser Phe Cys
 1 5 10

25

<210> 62

<211> 16

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

30

<220>

<223> Secuencias de péptidos miméticos de TPO

<400> 62

Gly Gly Cys Thr Leu Arg Glu Trp Leu His Gly Gly Phe Cys Gly Gly
 1 5 10 15

35

<210> 63

<211> 18

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

40

<220>

<223> Secuencias de péptidos miméticos de TPO

45

<400> 63

Gly Gly Cys Ala Asp Gly Pro Thr Leu Arg Glu Trp Ile Ser Phe Cys
 1 5 10 15

Gly Gly

<210> 64

<211> 19

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

50

<220>

<223> Secuencias de péptidos miméticos de TPO

<400> 64

Gly Asn Ala Asp Gly Pro Thr Leu Arg Gln Trp Leu Glu Gly Arg Arg
 1 5 10 15

5 Pro Lys Asn

<210> 65

<211> 19

<212> PRT

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencias de péptidos miméticos de TPO

15 <400> 65

Leu Ala Ile Glu Gly Pro Thr Leu Arg Gln Trp Leu His Gly Asn Gly
 1 5 10 15

Arg Asp Thr

<210> 66

<211> 19

<212> PRT

20 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencias de péptidos miméticos de TPO

25 <400> 66

His Gly Arg Val Gly Pro Thr Leu Arg Glu Trp Lys Thr Gln Val Ala
 1 5 10 15

Thr Lys Lys

<210> 67

<211> 18

<212> PRT

30 <213> Secuencia artificial

<220>

35 <223> Secuencias de péptidos miméticos de TPO

<400> 67

Thr Ile Lys Gly Pro Thr Leu Arg Gln Trp Leu Lys Ser Arg Glu His
 1 5 10 15

Thr Ser

40 <210> 68

<211> 18

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

45 <220>

<223> Secuencias de péptidos miméticos de TPO

<400> 68

Ile Ser Asp Gly Pro Thr Leu Lys Glu Trp Leu Ser Val Thr Arg Gly
 1 5 10 15

Ala Ser

5

<210> 69

<211> 18

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

10

<220>

<223> Secuencias de péptidos miméticos de TPO

<400> 69

Ser Ile Glu Gly Pro Thr Leu Arg Glu Trp Leu Thr Ser Arg Thr Pro
 1 5 10 15

His Ser

15

<210> 70

<211> 18

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20

<220>

<223> Secuencias de péptidos miméticos de TPO

<400> 70

Gly Ala Arg Glu Gly Pro Thr Leu Arg Gln Trp Leu Glu Trp Val Arg
 1 5 10 15

Val Gly

<210> 71

<211> 18

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

30

<220>

<223> Secuencias de péptidos miméticos de TPO

35

<400> 71

Arg Asp Leu Asp Gly Pro Thr Leu Arg Gln Trp Leu Pro Leu Pro Ser
 1 5 10 15

Val Gln

<210> 72

<211> 18

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

40

<220>

<223> Secuencias de péptidos miméticos de TPO

45

<400> 72

Ala Leu Arg Asp Gly Pro Thr Leu Lys Gln Trp Leu Glu Tyr Arg Arg
 1 5 10 15

Gln Ala

5 <210> 73
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Secuencias de péptidos miméticos de TPO

<400> 73

Ala Arg Gln Glu Gly Pro Thr Leu Lys Glu Trp Leu Phe Trp Val Arg
 1 5 10 15

Met Gly

15 <210> 74
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Secuencias de péptidos miméticos de TPO

<400> 74

Glu Ala Leu Leu Gly Pro Thr Leu Arg Glu Trp Leu Ala Trp Arg Arg
 1 5 10 15

25 Ala Gln

<210> 75
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Secuencias de péptidos miméticos de TPO

35 <400> 75

Met Ala Arg Asp Gly Pro Thr Leu Arg Glu Trp Leu Arg Thr Tyr Arg
 1 5 10 15

Met Met

40 <210> 76
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Secuencias de péptidos miméticos de TPO

45

<400> 76

Trp Met Pro Glu Gly Pro Thr Leu Lys Gln Trp Leu Phe His Gly Arg
 1 5 10 15

Gly Gln

5 <210> 77
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Secuencias de péptidos miméticos de TPO

<400> 77

His Ile Arg Glu Gly Pro Thr Leu Arg Gln Trp Leu Val Ala Leu Arg
 1 5 10 15

Met Val

15 <210> 78
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Secuencias de péptidos miméticos de TPO

<400> 78

Gln Leu Gly His Gly Pro Thr Leu Arg Gln Trp Leu Ser Trp Tyr Arg
 1 5 10 15

25 Gly Met

<210> 79
 <211> 18
 <212> PRT
 30 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Secuencias de péptidos miméticos de TPO

35 <400> 79

Glu Leu Arg Gln Gly Pro Thr Leu His Glu Trp Leu Gln His Leu Ala
 1 5 10 15

Ser Lys

<210> 80
 <211> 18
 40 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Secuencias de péptidos miméticos de TPO

45

<400> 80

Val Gly Ile Glu Gly Pro Thr Leu Arg Gln Trp Leu Ala Gln Arg Leu
 1 5 10 15

Asn Pro

5 <210> 81
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Secuencias de péptidos miméticos de TPO

<400> 81

Trp Ser Arg Asp Gly Pro Thr Leu Arg Glu Trp Leu Ala Trp Arg Ala
 1 5 10 15

Val Gly

15 <210> 82
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Secuencias de péptidos miméticos de TPO

<400> 82

Ala Val Pro Gln Gly Pro Thr Leu Lys Gln Trp Leu Leu Trp Arg Arg
 1 5 10 15

Cys Ala

25 <210> 83
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Secuencias de péptidos miméticos de TPO

<400> 83

Arg Ile Arg Glu Gly Pro Thr Leu Lys Glu Trp Leu Ala Gln Arg Arg
 1 5 10 15

Gly Phe

35 <210> 84
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Secuencias de péptidos miméticos de TPO

45 <400> 84

Arg Phe Ala Glu Gly Pro Thr Leu Arg Glu Trp Leu Glu Gln Arg Lys
 1 5 10 15

Leu Val

5 <210> 85
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Secuencias de péptidos miméticos de TPO

<400> 85
 Asp Arg Phe Gln Gly Pro Thr Leu Arg Glu Trp Leu Ala Ala Ile Arg
 1 5 10 15

Ser Val

15 <210> 86
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Secuencias de péptidos miméticos de TPO

<400> 86
 Ala Gly Arg Glu Gly Pro Thr Leu Arg Glu Trp Leu Asn Met Arg Val
 1 5 10 15

Trp Gln

25 <210> 87
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Secuencias de péptidos miméticos de TPO

<400> 87
 Ala Leu Gln Glu Gly Pro Thr Leu Arg Gln Trp Leu Gly Trp Gly Gln
 1 5 10 15

Trp Gly

35 <210> 88
 <211> 18
 <212> PRT
 40 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Secuencias de péptidos miméticos de TPO

45 <400> 88

Tyr Cys Asp Glu Gly Pro Thr Leu Lys Gln Trp Leu Val Cys Leu Gly
 1 5 10 15

Leu Gln

5 <210> 89
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Secuencias de péptidos miméticos de TPO

<400> 89
 Trp Cys Lys Glu Gly Pro Thr Leu Arg Glu Trp Leu Arg Trp Gly Phe
 1 5 10 15

Leu Cys

15 <210> 90
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Secuencias de péptidos miméticos de TPO

<400> 90
 Cys Ser Ser Gly Gly Pro Thr Leu Arg Glu Trp Leu Gln Cys Arg Arg
 1 5 10 15

Met Gln

25 <210> 91
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Secuencias de péptidos miméticos de TPO

<400> 91
 Cys Ser Trp Gly Gly Pro Thr Leu Lys Gln Trp Leu Gln Cys Val Arg
 1 5 10 15

Ala Lys

35 <210> 92
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Secuencias de péptidos miméticos de TPO

<400> 92

Cys Gln Leu Gly Gly Pro Thr Leu Arg Glu Trp Leu Ala Cys Arg Leu
 1 5 10 15

Gly Ala

5 <210> 93
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Secuencias de péptidos miméticos de TPO

<400> 93
 Cys Trp Glu Gly Gly Pro Thr Leu Lys Glu Trp Leu Gln Cys Leu Val
 1 5 10 15

Glu Arg

15 <210> 94
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Secuencias de péptidos miméticos de TPO

<400> 94
 Cys Arg Gly Gly Gly Pro Thr Leu His Gln Trp Leu Ser Cys Phe Arg
 1 5 10 15

Trp Gln

25 <210> 95
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Secuencias de péptidos miméticos de TPO

<400> 95
 Cys Arg Asp Gly Gly Pro Thr Leu Arg Gln Trp Leu Ala Cys Leu Gln
 1 5 10 15

Gln Lys

35 <210> 96
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Secuencias de péptidos miméticos de TPO

<400> 96

Glu Leu Arg Ser Gly Pro Thr Leu Lys Glu Trp Leu Val Trp Arg Leu
 1 5 10 15

Ala Gln

5 <210> 97
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Secuencias de péptidos miméticos de TPO

<400> 97
 Gly Cys Arg Ser Gly Pro Thr Leu Arg Glu Trp Leu Ala Cys Arg Glu
 1 5 10 15

Val Gln

15 <210> 98
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Secuencias de péptidos miméticos de TPO

<400> 98
 Thr Cys Glu Gln Gly Pro Thr Leu Arg Gln Trp Leu Leu Cys Arg Gln
 1 5 10 15

Gly Arg

25 <210> 99
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Secuencias de péptidos miméticos de TPO

<400> 99
 Gln Gly Tyr Cys Asp Glu Gly Pro Thr Leu Lys Gln Trp Leu Val Cys
 1 5 10 15

Leu Gly Leu Gln His Ser
 20

35 <210> 100
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a Ang-2

<400> 100

Trp Asp Pro Trp Thr
1 5

5 <210> 101
<211> 6
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Secuencia de péptido de unión a Ang-2

<400> 101
Trp Asp Pro Trp Thr Cys
1 5

15 <210> 102
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Secuencia de péptido de unión a Ang-2

25 <220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2) .. (2)
<223> Xaa en posición 2 es un residuo de aminoácido polar ácido o neutro

<400> 102
Cys Xaa Trp Asp Pro Trp Thr
1 5

30 <210> 103
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

35 <220>
<223> Secuencia de péptido de unión a Ang-2

40 <220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2) .. (2)
<223> Xaa en posición 2 es un residuo de aminoácido polar ácido o neutro

<400> 103
Cys Xaa Trp Asp Pro Trp Thr Cys
1 5

45 <210> 104
<211> 20
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

50 <220>
<223> Secuencia de péptido de unión a Ang-2

<400> 104

Pro Ile Arg Gln Glu Glu Cys Asp Trp Asp Pro Trp Thr Cys Glu His
 1 5 10 15

Met Trp Glu Val
 20

5 <210> 105
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a Ang-2

<400> 105
 Thr Asn Ile Gln Glu Glu Cys Glu Trp Asp Pro Trp Thr Cys Asp His
 1 5 10 15

Met Pro Gly Lys
 20

15 <210> 106
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a Ang-2

<400> 106
 Trp Tyr Glu Gln Asp Ala Cys Glu Trp Asp Pro Trp Thr Cys Glu His
 1 5 10 15

Met Ala Glu Val
 20

25 <210> 107
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a Ang-2

<400> 107
 Asn Arg Leu Gln Glu Val Cys Glu Trp Asp Pro Trp Thr Cys Glu His
 1 5 10 15

Met Glu Asn Val
 20

35 <210> 108
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40 <220>

ES 2 399 618 T3

<223> Secuencia de péptido de unión a Ang-2

<400> 108

Ala Ala Thr Gln Glu Glu Cys Glu Trp Asp Pro Trp Thr Cys Glu His
 1 5 10 15

Met Pro Arg Ser
 20

5

<210> 109

<211> 20

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

10

<220>

<223> Secuencia de péptido de unión a Ang-2

<400> 109

Leu Arg His Gln Glu Gly Cys Glu Trp Asp Pro Trp Thr Cys Glu His
 1 5 10 15

Met Phe Asp Trp
 20

15

<210> 110

<211> 20

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20

<220>

<223> Secuencia de péptido de unión a Ang-2

25

<400> 110

Val Pro Arg Gln Lys Asp Cys Glu Trp Asp Pro Trp Thr Cys Glu His
 1 5 10 15

Met Tyr Val Gly
 20

30

<210> 111

<211> 20

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia de péptido de unión a Ang-2

<400> 111

Ser Ile Ser His Glu Glu Cys Glu Trp Asp Pro Trp Thr Cys Glu His
 1 5 10 15

Met Gln Val Gly
 20

40

<210> 112

<211> 20

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a Ang-2

5 <400> 112
 Trp Ala Ala Gln Glu Glu Cys Glu Trp Asp Pro Trp Thr Cys Glu His
 1 5 10 15

Met Gly Arg Met
 20

<210> 113
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a Ang-2

15 <400> 113
 Thr Trp Pro Gln Asp Lys Cys Glu Trp Asp Pro Trp Thr Cys Glu His
 1 5 10 15

Met Gly Ser Thr
 20

<210> 114
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a Ang-2

25 <400> 114
 Gly His Ser Gln Glu Glu Cys Gly Trp Asp Pro Trp Thr Cys Glu His
 1 5 10 15

Met Gly Thr Ser
 20

30 <210> 115
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

35 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a Ang-2

<400> 115
 Gln His Trp Gln Glu Glu Cys Glu Trp Asp Pro Trp Thr Cys Asp His
 1 5 10 15

Met Pro Ser Lys
 20

40

<210> 116
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 5
 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a Ang-2
 <400> 116
 Asn Val Arg Gln Glu Lys Cys Glu Trp Asp Pro Trp Thr Cys Glu His
 1 5 10 15
 Met Pro Val Arg
 20
 10
 <210> 117
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 15
 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a Ang-2
 20
 <400> 117
 Lys Ser Gly Gln Val Glu Cys Asn Trp Asp Pro Trp Thr Cys Glu His
 1 5 10 15
 Met Pro Arg Asn
 20
 25
 <210> 118
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 30
 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a Ang-2
 <400> 118
 Val Lys Thr Gln Glu His Cys Asp Trp Asp Pro Trp Thr Cys Glu His
 1 5 10 15
 Met Arg Glu Trp
 20
 35
 <210> 119
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 40
 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a Ang-2
 <400> 119

ES 2 399 618 T3

Ala Trp Gly Gln Glu Gly Cys Asp Trp Asp Pro Trp Thr Cys Glu His
 1 5 10 15

Met Leu Pro Met
 20

5 <210> 120
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a Ang-2

<400> 120
 Pro Val Asn Gln Glu Asp Cys Glu Trp Asp Pro Trp Thr Cys Glu His
 1 5 10 15

Met Pro Pro Met
 20

15 <210> 121
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a Ang-2

<400> 121
 Arg Ala Pro Gln Glu Asp Cys Glu Trp Asp Pro Trp Thr Cys Ala His
 1 5 10 15

Met Asp Ile Lys
 20

25 <210> 122
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a Ang-2

<400> 122
 His Gly Gln Asn Met Glu Cys Glu Trp Asp Pro Trp Thr Cys Glu His
 1 5 10 15

Met Phe Arg Tyr
 20

35 <210> 123
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40 <220>

ES 2 399 618 T3

<223> Secuencia de péptido de unión a Ang-2

<400> 123

Pro Arg Leu Gln Glu Glu Cys Val Trp Asp Pro Trp Thr Cys Glu His
1 5 10 15

Met Pro Leu Arg
20

5

<210> 124

<211> 20

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

10

<220>

<223> Secuencia de péptido de unión a Ang-2

<400> 124

Arg Thr Thr Gln Glu Lys Cys Glu Trp Asp Pro Trp Thr Cys Glu His
1 5 10 15

Met Glu Ser Gln
20

15

<210> 125

<211> 20

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20

<220>

<223> Secuencia de péptido de unión a Ang-2

25

<400> 125

Gln Thr Ser Gln Glu Asp Cys Val Trp Asp Pro Trp Thr Cys Asp His
1 5 10 15

Met Val Ser Ser
20

30

<210> 126

<211> 20

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia de péptido de unión a Ang-2

35

<400> 126

Gln Val Ile Gly Arg Pro Cys Glu Trp Asp Pro Trp Thr Cys Glu His
1 5 10 15

Leu Glu Gly Leu
20

40

<210> 127

<211> 20

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia de péptido de unión a Ang-2

5

<400> 127

Trp Ala Gln Gln Glu Glu Cys Ala Trp Asp Pro Trp Thr Cys Asp His
 1 5 10 15

Met Val Gly Leu
 20

<210> 128

<211> 20

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

10

<220>

<223> Secuencia de péptido de unión a Ang-2

15

<400> 128

Leu Pro Gly Gln Glu Asp Cys Glu Trp Asp Pro Trp Thr Cys Glu His
 1 5 10 15

Met Val Arg Ser
 20

20

<210> 129

<211> 20

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

25

<220>

<223> Secuencia de péptido de unión a Ang-2

<400> 129

Pro Met Asn Gln Val Glu Cys Asp Trp Asp Pro Trp Thr Cys Glu His
 1 5 10 15

Met Pro Arg Ser
 20

30

<210> 130

<211> 20

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

35

<220>

<223> Secuencia de péptido de unión a Ang-2

<400> 130

Phe Gly Trp Ser His Gly Cys Glu Trp Asp Pro Trp Thr Cys Glu His
 1 5 10 15

Met Gly Ser Thr
 20

40

<210> 131
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 5
 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a Ang-2
 <400> 131
 Lys Ser Thr Gln Asp Asp Cys Asp Trp Asp Pro Trp Thr Cys Glu His
 1 5 10 15
 Met Val Gly Pro
 20
 10
 <210> 132
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 15
 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a Ang-2
 20
 <400> 132
 Gly Pro Arg Ile Ser Thr Cys Gln Trp Asp Pro Trp Thr Cys Glu His
 1 5 10 15
 Met Asp Gln Leu
 20
 <210> 133
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 25
 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a Ang-2
 30
 <400> 133
 Ser Thr Ile Gly Asp Met Cys Glu Trp Asp Pro Trp Thr Cys Ala His
 1 5 10 15
 Met Gln Val Asp
 20
 <210> 134
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 35
 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a Ang-2
 40
 <400> 134

ES 2 399 618 T3

Val Leu Gly Gly Gln Gly Cys Glu Trp Asp Pro Trp Thr Cys Arg Leu
 1 5 10 15

Leu Gln Gly Trp
 20

5 <210> 135
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a Ang-2

<400> 135

Val Leu Gly Gly Gln Gly Cys Gln Trp Asp Pro Trp Thr Cys Ser His
 1 5 10 15

Leu Glu Asp Gly
 20

15 <210> 136
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a Ang-2

<400> 136

Thr Thr Ile Gly Ser Met Cys Glu Trp Asp Pro Trp Thr Cys Ala His
 1 5 10 15

Met Gln Gly Gly
 20

25 <210> 137
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a Ang-2

<400> 137

Thr Lys Gly Lys Ser Val Cys Gln Trp Asp Pro Trp Thr Cys Ser His
 1 5 10 15

Met Gln Ser Gly
 20

35 <210> 138
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a Ang-2

<400> 138
 Thr Thr Ile Gly Ser Met Cys Gln Trp Asp Pro Trp Thr Cys Ala His
 1 5 10 15

Met Gln Gly Gly
 20

5 <210> 139
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a Ang-2

<400> 139
 Trp Val Asn Glu Val Val Cys Glu Trp Asp Pro Trp Thr Cys Asn His
 1 5 10 15

Trp Asp Thr Pro
 20

15 <210> 140
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a Ang-2

<400> 140
 Val Val Gln Val Gly Met Cys Gln Trp Asp Pro Trp Thr Cys Lys His
 1 5 10 15

Met Arg Leu Gln
 20

25 <210> 141
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a Ang-2

35 <400> 141
 Ala Val Gly Ser Gln Thr Cys Glu Trp Asp Pro Trp Thr Cys Ala His
 1 5 10 15

Leu Val Glu Val
 20

40 <210> 142
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

ES 2 399 618 T3

<220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a Ang-2

<400> 142
 Gln Gly Met Lys Met Phe Cys Glu Trp Asp Pro Trp Thr Cys Ala His
 1 5 10 15
 Ile Val Tyr Arg
 20

<210> 143
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a Ang-2

<400> 143
 Thr Thr Ile Gly Ser Met Cys Gln Trp Asp Pro Trp Thr Cys Glu His
 1 5 10 15
 Met Gln Gly Gly
 20

<210> 144
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a Ang-2

<400> 144
 Thr Ser Gln Arg Val Gly Cys Glu Trp Asp Pro Trp Thr Cys Gln His
 1 5 10 15
 Leu Thr Tyr Thr
 20

<210> 145
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a Ang-2

<400> 145
 Gln Trp Ser Trp Pro Pro Cys Glu Trp Asp Pro Trp Thr Cys Gln Thr
 1 5 10 15
 Val Trp Pro Ser
 20

<210> 146
 <211> 20
 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

5 <223> Secuencia de péptido de unión a Ang-2

<400> 146

Gly Thr Ser Pro Ser Phe Cys Gln Trp Asp Pro Trp Thr Cys Ser His
 1 5 10 15

Met Val Gln Gly
 20

<210> 147

10 <211> 14

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Secuencia de péptido de unión a Ang-2

<400> 147

Gln Glu Glu Cys Glu Trp Asp Pro Trp Thr Cys Glu His Met
 1 5 10

<210> 148

20 <211> 22

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

25 <223> Secuencia de péptido de unión a Ang-2

<400> 148

Gln Asn Tyr Lys Pro Leu Asp Glu Leu Asp Ala Thr Leu Tyr Glu His
 1 5 10 15

Phe Ile Phe His Tyr Thr
 20

30 <210> 149

<211> 22

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

35 <220>

<223> Secuencia de péptido de unión a Ang-2

<400> 149

Leu Asn Phe Thr Pro Leu Asp Glu Leu Glu Gln Thr Leu Tyr Glu Gln
 1 5 10 15

Trp Thr Leu Gln Gln Ser
 20

40 <210> 150

<211> 22

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia de péptido de unión a Ang-2

5

<400> 150

Thr Lys Phe Asn Pro Leu Asp Glu Leu Glu Gln Thr Leu Tyr Glu Gln
 1 5 10 15

Trp Thr Leu Gln His Gln
 20

<210> 151

<211> 22

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

10

<220>

<223> Secuencia de péptido de unión a Ang-2

15

<400> 151

Val Lys Phe Lys Pro Leu Asp Ala Leu Glu Gln Thr Leu Tyr Glu His
 1 5 10 15

Trp Met Phe Gln Gln Ala
 20

20

<210> 152

<211> 22

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

25

<220>

<223> Secuencia de péptido de unión a Ang-2

<400> 152

Val Lys Tyr Lys Pro Leu Asp Glu Leu Asp Glu Ile Leu Tyr Glu Gln
 1 5 10 15

Gln Thr Phe Gln Glu Arg
 20

30

<210> 153

<211> 22

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

35

<220>

<223> Secuencia de péptido de unión a Ang-2

<400> 153

Thr Asn Phe Met Pro Met Asp Asp Leu Glu Gln Arg Leu Tyr Glu Gln
 1 5 10 15

Phe Ile Leu Gln Gln Gly
 20

ES 2 399 618 T3

- 5 <210> 154
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
- <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a Ang-2
- 10 <400> 154
 Ser Lys Phe Lys Pro Leu Asp Glu Leu Glu Gln Thr Leu Tyr Glu Gln
 1 5 10 15
- Trp Thr Leu Gln His Ala
 20
- 15 <210> 155
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
- 20 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a Ang-2
- <400> 155
 Gln Lys Phe Gln Pro Leu Asp Glu Leu Glu Gln Thr Leu Tyr Glu Gln
 1 5 10 15
- Phe Met Leu Gln Gln Ala
 20
- 25 <210> 156
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
- 30 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a Ang-2
- <400> 156
 Gln Asn Phe Lys Pro Met Asp Glu Leu Glu Asp Thr Leu Tyr Lys Gln
 1 5 10 15
- Phe Leu Phe Gln His Ser
 20
- 35 <210> 157
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
- 40 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a Ang-2
- <400> 157

Tyr Lys Phe Thr Pro Leu Asp Asp Leu Glu Gln Thr Leu Tyr Glu Gln
 1 5 10 15

Trp Thr Leu Gln His Val
 20

5 <210> 158
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a Ang-2

<400> 158

Gln Glu Tyr Glu Pro Leu Asp Glu Leu Asp Glu Thr Leu Tyr Asn Gln
 1 5 10 15

Trp Met Phe His Gln Arg
 20

15 <210> 159
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a Ang-2

<400> 159

Ser Asn Phe Met Pro Leu Asp Glu Leu Glu Gln Thr Leu Tyr Glu Gln
 1 5 10 15

Phe Met Leu Gln His Gln
 20

25 <210> 160
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a Ang-2

<400> 160

Gln Lys Tyr Gln Pro Leu Asp Glu Leu Asp Lys Thr Leu Tyr Asp Gln
 1 5 10 15

Phe Met Leu Gln Gln Gly
 20

35 <210> 161
 <211> 22
 <212> PRT
 40 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a Ang-2

<400> 161

Gln Lys Phe Gln Pro Leu Asp Glu Leu Glu Glu Thr Leu Tyr Lys Gln
 1 5 10 15

Trp Thr Leu Gln Gln Arg
 20

5 <210> 162
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a Ang-2

<400> 162

Val Lys Tyr Lys Pro Leu Asp Glu Leu Asp Glu Trp Leu Tyr His Gln
 1 5 10 15

Phe Thr Leu His His Gln
 20

15 <210> 163
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a Ang-2

<400> 163

Gln Lys Phe Met Pro Leu Asp Glu Leu Asp Glu Ile Leu Tyr Glu Gln
 1 5 10 15

Phe Met Phe Gln Gln Ser
 20

25 <210> 164
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a Ang-2

<400> 164

Gln Thr Phe Gln Pro Leu Asp Asp Leu Glu Glu Tyr Leu Tyr Glu Gln
 1 5 10 15

Trp Ile Arg Arg Tyr His
 20

40 <210> 165
 <211> 22
 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

5 <223> Secuencia de péptido de unión a Ang-2

<400> 165

Glu Asp Tyr Met Pro Leu Asp Ala Leu Asp Ala Gln Leu Tyr Glu Gln
 1 5 10 15

Phe Ile Leu Leu His Gly
 20

10 <210> 166
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15 <220>

<223> Secuencia de péptido de unión a Ang-2

<400> 166

His Thr Phe Gln Pro Leu Asp Glu Leu Glu Glu Thr Leu Tyr Tyr Gln
 1 5 10 15

Trp Leu Tyr Asp Gln Leu
 20

20 <210> 167
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

25 <220>

<223> Secuencia de péptido de unión a Ang-2

<400> 167

Tyr Lys Phe Asn Pro Met Asp Glu Leu Glu Gln Thr Leu Tyr Glu Glu
 1 5 10 15

Phe Leu Phe Gln His Ala
 20

30 <210> 168
 <211> 22
 <212> PRT

35 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia de péptido de unión a Ang-2

40 <400> 168

Thr Asn Tyr Lys Pro Leu Asp Glu Leu Asp Ala Thr Leu Tyr Glu His
 1 5 10 15

Trp Ile Leu Gln His Ser
 20

5 <210> 169
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a Ang-2

<400> 169
 Gln Lys Phe Lys Pro Leu Asp Glu Leu Glu Gln Thr Leu Tyr Glu Gln
 1 5 10 15

Trp Thr Leu Gln Gln Arg
 20

15 <210> 170
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a Ang-2

<400> 170
 Thr Lys Phe Gln Pro Leu Asp Glu Leu Asp Gln Thr Leu Tyr Glu Gln
 1 5 10 15

Trp Thr Leu Gln Gln Arg
 20

25 <210> 171
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a Ang-2

<400> 171
 Thr Asn Phe Gln Pro Leu Asp Glu Leu Asp Gln Thr Leu Tyr Glu Gln
 1 5 10 15

Trp Thr Leu Gln Gln Arg
 20

35 <210> 172
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a Ang-2

<400> 172

Lys Phe Asn Pro Leu Asp Glu Leu Glu Glu Thr Leu Tyr Glu Gln Phe
 1 5 10 15

Thr Phe Gln Gln
 20

5 <210> 173

<211> 20

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

10 <220>

<223> Secuencia de péptido de unión a Ang-2

<400> 173

Ala Gly Gly Met Arg Pro Tyr Asp Gly Met Leu Gly Trp Pro Asn Tyr
 1 5 10 15

Asp Val Gln Ala
 20

15

<210> 174

<211> 20

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20

<220>

<223> Secuencia de péptido de unión a Ang-2

<400> 174

Gln Thr Trp Asp Asp Pro Cys Met His Ile Leu Gly Pro Val Thr Trp
 1 5 10 15

Arg Arg Cys Ile
 20

25

<210> 175

<211> 20

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

30

<220>

<223> Secuencia de péptido de unión a Ang-2

35 <400> 175

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

Gln Arg Ile Val
 20

40

<210> 176

<211> 20

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a Ang-2

5 <400> 176
 Ser Gly Gln Leu Arg Pro Cys Glu Glu Ile Phe Gly Cys Gly Thr Gln
 1 5 10 15

Asn Leu Ala Leu
 20

<210> 177
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a Ang-2

15 <400> 177
 Phe Gly Asp Lys Arg Pro Leu Glu Cys Met Phe Gly Gly Pro Ile Gln
 1 5 10 15

Leu Cys Pro Arg
 20

20 <210> 178
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a Ang-2

<400> 178
 Gly Gln Asp Leu Arg Pro Cys Glu Asp Met Phe Gly Cys Gly Thr Lys
 1 5 10 15

Asp Trp Tyr Gly
 20

30 <210> 179
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

35 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a Ang-2

<400> 179
 Lys Arg Pro Cys Glu Glu Ile Phe Gly Gly Cys Thr Tyr Gln
 1 5 10

40 <210> 180
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

45

ES 2 399 618 T3

<220>

<223> Secuencia de péptido de unión a Ang-2

<400> 180

Gly Phe Glu Tyr Cys Asp Gly Met Glu Asp Pro Phe Thr Phe Gly Cys
 1 5 10 15

Asp Lys Gln Thr
 20

5

<210> 181

<211> 20

<212> PRT

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia de péptido de unión a Ang-2

15

<400> 181

Lys Leu Glu Tyr Cys Asp Gly Met Glu Asp Pro Phe Thr Gln Gly Cys
 1 5 10 15

Asp Asn Gln Ser
 20

<210> 182

<211> 20

<212> PRT

20 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia de péptido de unión a Ang-2

25

<400> 182

Leu Gln Glu Trp Cys Glu Gly Val Glu Asp Pro Phe Thr Phe Gly Cys
 1 5 10 15

Glu Lys Gln Arg
 20

<210> 183

<211> 20

<212> PRT

30 <213> Secuencia artificial

<220>

35 <223> Secuencia de péptido de unión a Ang-2

<400> 183

Ala Gln Asp Tyr Cys Glu Gly Met Glu Asp Pro Phe Thr Phe Gly Cys
 1 5 10 15

Glu Met Gln Lys
 20

40

<210> 184

<211> 20

<212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 5 <223> Secuencia de péptido de unión a Ang-2

<400> 184
 Leu Leu Asp Tyr Cys Glu Gly Val Gln Asp Pro Phe Thr Phe Gly Cys
 1 5 10 15

Glu Asn Leu Asp
 20

10 <210> 185
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a Ang-2

<400> 185
 His Gln Glu Tyr Cys Glu Gly Met Glu Asp Pro Phe Thr Phe Gly Cys
 1 5 10 15

Glu Tyr Gln Gly
 20

20 <210> 186
 <211> 20
 <212> PRT
 25 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a Ang-2

30 <400> 186
 Met Leu Asp Tyr Cys Glu Gly Met Asp Asp Pro Phe Thr Phe Gly Cys
 1 5 10 15

Asp Lys Gln Met
 20

<210> 187
 <211> 20
 <212> PRT
 35 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a Ang-2

40 <400> 187

Leu Gln Asp Tyr Cys Glu Gly Val Glu Asp Pro Phe Thr Phe Gly Cys
 1 5 10 15

Glu Asn Gln Arg
 20

5 <210> 188
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a Ang-2

<400> 188

Leu Gln Asp Tyr Cys Glu Gly Val Glu Asp Pro Phe Thr Phe Gly Cys
 1 5 10 15

Glu Lys Gln Arg
 20

15 <210> 189
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a Ang-2

<400> 189

Phe Asp Tyr Cys Glu Gly Val Glu Asp Pro Phe Thr Phe Gly Cys Asp
 1 5 10 15

Asn His

25 <210> 190
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Secuencias de péptidos de unión a NGF

<400> 190

Thr Gly Tyr Thr Glu Tyr Thr Glu Glu Trp Pro Met Gly Phe Gly Tyr
 1 5 10 15

Gln Trp Ser Phe
 20

35 <210> 191
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Secuencias de péptidos de unión a NGF

<400> 191

Thr Asp Trp Leu Ser Asp Phe Pro Phe Tyr Glu Gln Tyr Phe Gly Leu
 1 5 10 15

Met Pro Pro Gly
 20

5 <210> 192

<211> 20

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

10 <220>

<223> Secuencias de péptidos de unión a NGF

<400> 192

Phe Met Arg Phe Pro Asn Pro Trp Lys Leu Val Glu Pro Pro Gln Gly
 1 5 10 15

Trp Tyr Tyr Gly
 20

15

<210> 193

<211> 20

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20

<220>

<223> Secuencias de péptidos de unión a NGF

<400> 193

Val Val Lys Ala Pro His Phe Glu Phe Leu Ala Pro Pro His Phe His
 1 5 10 15

Glu Phe Pro Phe
 20

25

<210> 194

<211> 20

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

30

<220>

<223> Secuencias de péptidos de unión a NGF

35 <400> 194

Phe Ser Tyr Ile Trp Ile Asp Glu Thr Pro Ser Asn Ile Asp Arg Tyr
 1 5 10 15

Met Leu Trp Leu
 20

40

<210> 195

<211> 20

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencias de péptidos de unión a NGF

5 <400> 195
 Val Asn Phe Pro Lys Val Pro Glu Asp Val Glu Pro Trp Pro Trp Ser
 1 5 10 15

Leu Lys Leu Tyr
 20

<210> 196

<211> 20

10 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencias de péptidos de unión a NGF

15 <400> 196
 Thr Trp His Pro Lys Thr Tyr Glu Glu Phe Ala Leu Pro Phe Phe Val
 1 5 10 15

Pro Glu Ala Pro
 20

<210> 197

20 <211> 20

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

25 <223> Secuencias de péptidos de unión a NGF

<400> 197

Trp His Phe Gly Thr Pro Tyr Ile Gln Gln Gln Pro Gly Val Tyr Trp
 1 5 10 15

Leu Gln Ala Pro
 20

30 <210> 198

<211> 20

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

35 <220>

<223> Secuencias de péptidos de unión a NGF

<400> 198

Val Trp Asn Tyr Gly Pro Phe Phe Met Asn Phe Pro Asp Ser Thr Tyr
 1 5 10 15

Phe Leu His Glu
 20

40 <210> 199

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

5

<220>
 <223> Secuencias de péptidos de unión a NGF

<400> 199
 Trp Arg Ile His Ser Lys Pro Leu Asp Tyr Ser His Val Trp Phe Phe
 1 5 10 15

Pro Ala Asp Phe
 20

10

<210> 200
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15

<220>
 <223> Secuencias de péptidos de unión a NGF

<400> 200
 Phe Trp Asp Gly Asn Gln Pro Pro Asp Ile Leu Val Asp Trp Pro Trp
 1 5 10 15

Asn Pro Pro Val
 20

20

<210> 201
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

25

<220>
 <223> Secuencias de péptidos de unión a NGF

30

<400> 201
 Phe Tyr Ser Leu Glu Trp Leu Lys Asp His Ser Glu Phe Phe Gln Thr
 1 5 10 15

Val Thr Glu Trp
 20

<210> 202
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

35

<220>
 <223> Secuencias de péptidos de unión a NGF

40

<400> 202

Gln Phe Met Glu Leu Leu Lys Phe Phe Asn Ser Pro Gly Asp Ser Ser
 1 5 10 15

His His Phe Leu
 20

5 <210> 203
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Secuencias de péptidos de unión a NGF

<400> 203
 Thr Asn Val Asp Trp Ile Ser Asn Asn Trp Glu His Met Lys Ser Phe
 1 5 10 15

Phe Thr Glu Asp
 20

15 <210> 204
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Secuencias de péptidos de unión a NGF

<400> 204
 Pro Asn Glu Lys Pro Tyr Gln Met Gln Ser Trp Phe Pro Pro Asp Trp
 1 5 10 15

Pro Val Pro Tyr
 20

25 <210> 205
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Secuencias de péptidos de unión a NGF

<400> 205
 Trp Ser His Thr Glu Trp Val Pro Gln Val Trp Trp Lys Pro Pro Asn
 1 5 10 15

His Phe Tyr Val
 20

35 <210> 206
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40 <220>

ES 2 399 618 T3

<223> Secuencias de péptidos de unión a NGF

<400> 206

Trp Gly Glu Trp Ile Asn Asp Ala Gln Val His Met His Glu Gly Phe
1 5 10 15

Ile Ser Glu Ser
20

5

<210> 207

<211> 20

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

10

<220>

<223> Secuencias de péptidos de unión a NGF

<400> 207

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

Trp His Ile Ala
20

15

<210> 208

<211> 20

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20

<220>

<223> Secuencias de péptidos de unión a NGF

25

<400> 208

Val Leu His Leu Gln Asp Pro Arg Gly Trp Ser Asn Phe Pro Pro Gly
1 5 10 15

Val Leu Glu Leu
20

30

<210> 209

<211> 14

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencias de péptidos de unión a NGF

35

<400> 209

Ile His Gly Cys Trp Phe Thr Glu Glu Gly Cys Val Trp Gln
1 5 10

40

<210> 210

<211> 14

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

45

<220>

<223> Secuencias de péptidos de unión a NGF

<400> 210
 Tyr Met Gln Cys Gln Phe Ala Arg Asp Gly Cys Pro Gln Trp
 1 5 10

5 <210> 211
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Secuencias de péptidos de unión a NGF

<400> 211
 Lys Leu Gln Cys Gln Tyr Ser Glu Ser Gly Cys Pro Thr Ile
 1 5 10

15 <210> 212
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Secuencias de péptidos de unión a NGF

<400> 212
 Phe Leu Gln Cys Glu Ile Ser Gly Gly Ala Cys Pro Ala Pro
 1 5 10

25 <210> 213
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Secuencias de péptidos de unión a NGF

35 <400> 213
 Lys Leu Gln Cys Glu Phe Ser Thr Ser Gly Cys Pro Asp Leu
 1 5 10

40 <210> 214
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

45 <220>
 <223> Secuencias de péptidos de unión a NGF

<400> 214
 Lys Leu Gln Cys Glu Phe Ser Thr Gln Gly Cys Pro Asp Leu
 1 5 10

50 <210> 215
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

55 <220>
 <223> Secuencias de péptidos de unión a NGF

<400> 215

Lys Leu Gln Cys Glu Phe Ser Thr Ser Gly Cys Pro Trp Leu
 1 5 10

5 <210> 216
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Secuencias de péptidos de unión a NGF

<400> 216
 Ile Gln Gly Cys Trp Phe Thr Glu Glu Gly Cys Pro Trp Gln
 1 5 10

15 <210> 217
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Secuencias de péptidos de unión a NGF

<400> 217
 Ser Phe Asp Cys Asp Asn Pro Trp Gly His Val Leu Gln Ser Cys Phe
 1 5 10 15

Gly Phe

25 <210> 218
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Secuencias de péptidos de unión a NGF

<400> 218
 Ser Phe Asp Cys Asp Asn Pro Trp Gly His Lys Leu Gln Ser Cys Phe
 1 5 10 15

Gly Phe

35 <210> 219
 <211> 14
 <212> PRT
 40 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

45 <400> 219
 Lys Asp Leu Cys Ala Met Trp His Trp Met Cys Lys Pro Pro
 1 5 10

<210> 220

<211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 220
Lys Asp Leu Cys Lys Met Trp Lys Trp Met Cys Lys Pro Pro
1 5 10

10 <210> 221
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 221
Lys Asp Leu Cys Lys Met Trp His Trp Met Cys Lys Pro Lys
1 5 10

20 <210> 222
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

30 <400> 222
Trp Tyr Pro Cys Tyr Glu Phe His Phe Trp Cys Tyr Asp Leu
1 5 10

35 <210> 223
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 223
Trp Tyr Pro Cys Tyr Glu Gly His Phe Trp Cys Tyr Asp Leu
1 5 10

45 <210> 224
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

50 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 224
Ile Phe Gly Cys Lys Trp Trp Asp Val Gln Cys Tyr Gln Phe
1 5 10

55 <210> 225

<211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 225
Ile Phe Gly Cys Lys Trp Trp Asp Val Asp Cys Tyr Gln Phe
 1 5 10

10 <210> 226
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 226
Ala Asp Trp Cys Val Ser Pro Asn Trp Phe Cys Met Val Met
 1 5 10

20 <210> 227
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

30 <400> 227
His Lys Phe Cys Pro Trp Trp Ala Leu Phe Cys Trp Asp Phe
 1 5 10

35 <210> 228
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 228
Lys Asp Leu Cys Lys Met Trp His Trp Met Cys Lys Pro Pro
 1 5 10

45 <210> 229
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

50 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 229
Ile Asp Lys Cys Ala Ile Trp Gly Trp Met Cys Pro Pro Leu
 1 5 10

55 <210> 230

<211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 230
 Trp Tyr Pro Cys Gly Glu Phe Gly Met Trp Cys Leu Asn Val
 1 5 10

10 <210> 231
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 231
 Trp Phe Thr Cys Leu Trp Asn Cys Asp Asn Glu
 1 5 10

20 <210> 232
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

30 <400> 232
 His Thr Pro Cys Pro Trp Phe Ala Pro Leu Cys Val Glu Trp
 1 5 10

35 <210> 233
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

40 <400> 233
 Lys Glu Trp Cys Trp Arg Trp Lys Trp Met Cys Lys Pro Glu
 1 5 10

45 <210> 234
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

50 <400> 234
 Phe Glu Thr Cys Pro Ser Trp Ala Tyr Phe Cys Leu Asp Ile
 1 5 10

<210> 235
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 5
 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina
 <400> 235
 Ala Tyr Lys Cys Glu Ala Asn Asp Trp Gly Cys Trp Trp Leu
 1 5 10
 10
 <210> 236
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 15
 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina
 <400> 236
 Asn Ser Trp Cys Glu Asp Gln Trp His Arg Cys Trp Trp Leu
 1 5 10
 20
 <210> 237
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 25
 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina
 <400> 237
 Trp Ser Ala Cys Tyr Ala Gly His Phe Trp Cys Tyr Asp Leu
 1 5 10
 30
 <210> 238
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 35
 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina
 <400> 238
 Ala Asn Trp Cys Val Ser Pro Asn Trp Phe Cys Met Val Met
 1 5 10
 40
 <210> 239
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 45
 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina
 <400> 239
 Trp Thr Glu Cys Tyr Gln Gln Glu Phe Trp Cys Trp Asn Leu
 1 5 10
 50
 <210> 240

<211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 240
Glu Asn Thr Cys Glu Arg Trp Lys Trp Met Cys Pro Pro Lys
1 5 10

10 <210> 241
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 241
Trp Leu Pro Cys His Gln Glu Gly Phe Trp Cys Met Asn Phe
1 5 10

20 <210> 242
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

30 <400> 242
Ser Thr Met Cys Ser Gln Trp His Trp Met Cys Asn Pro Phe
1 5 10

35 <210> 243
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 243
Ile Phe Gly Cys His Trp Trp Asp Val Asp Cys Tyr Gln Phe
1 5 10

45 <210> 244
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

50 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 244
Ile Tyr Gly Cys Lys Trp Trp Asp Ile Gln Cys Tyr Asp Ile
1 5 10

55 <210> 245

<211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 245

Pro Asp Trp Cys Ile Asp Pro Asp Trp Trp Cys Lys Phe Trp
 1 5 10

10 <210> 246
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 246

Gln Gly His Cys Thr Arg Trp Pro Trp Met Cys Pro Pro Tyr
 1 5 10

20 <210> 247
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 247

Trp Gln Glu Cys Tyr Arg Glu Gly Phe Trp Cys Leu Gln Thr
 1 5 10

30 <210> 248
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

35 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 248

Trp Phe Asp Cys Tyr Gly Pro Gly Phe Lys Cys Trp Ser Pro
 1 5 10

40 <210> 249
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

45 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 249

Gly Val Arg Cys Pro Lys Gly His Leu Trp Cys Leu Tyr Pro
 1 5 10

50 <210> 250

55

<211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 250
 His Trp Ala Cys Gly Tyr Trp Pro Trp Ser Cys Lys Trp Val
 1 5 10

10 <210> 251
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 251
 Gly Pro Ala Cys His Ser Pro Trp Trp Trp Cys Val Phe Gly
 1 5 10

20 <210> 252
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

30 <400> 252
 Thr Thr Trp Cys Ile Ser Pro Met Trp Phe Cys Ser Gln Gln
 1 5 10

35 <210> 253
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 253
 His Lys Phe Cys Pro Pro Trp Ala Ile Phe Cys Trp Asp Phe
 1 5 10

45 <210> 254
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

50 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 254
 Pro Asp Trp Cys Val Ser Pro Arg Trp Tyr Cys Asn Met Trp
 1 5 10

55 <210> 255
 <211> 14

<212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 255
 Val Trp Lys Cys His Trp Phe Gly Met Asp Cys Glu Pro Thr
 1 5 10

10 <210> 256
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 256
 Lys Lys His Cys Gln Ile Trp Thr Trp Met Cys Ala Pro Lys
 1 5 10

20 <210> 257
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 257
 Trp Phe Gln Cys Gly Ser Thr Leu Phe Trp Cys Tyr Asn Leu
 1 5 10

30 <210> 258
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

35 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

40 <400> 258
 Trp Ser Pro Cys Tyr Asp His Tyr Phe Tyr Cys Tyr Thr Ile
 1 5 10

45 <210> 259
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

50 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 259
 Ser Trp Met Cys Gly Phe Phe Lys Glu Val Cys Met Trp Val
 1 5 10

55 <210> 260
 <211> 14
 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

5 <400> 260
Glu Met Leu Cys Met Ile His Pro Val Phe Cys Asn Pro His
1 5 10

10 <210> 261
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 261
Leu Lys Thr Cys Asn Leu Trp Pro Trp Met Cys Pro Pro Leu
1 5 10

20 <210> 262
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 262
Val Val Gly Cys Lys Trp Tyr Glu Ala Trp Cys Tyr Asn Lys
1 5 10

30 <210> 263
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

35 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 263
Pro Ile His Cys Thr Gln Trp Ala Trp Met Cys Pro Pro Thr
1 5 10

40 <210> 264
 <211> 14
 <212> PRT

45 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

50 <400> 264
Asp Ser Asn Cys Pro Trp Tyr Phe Leu Ser Cys Val Ile Phe
1 5 10

55 <210> 265
 <211> 14
 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

5 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 265

His Ile Trp Cys Asn Leu Ala Met Met Lys Cys Val Glu Met
 1 5 10

<210> 266

10 <211> 14

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 266

Asn Leu Gln Cys Ile Tyr Phe Leu Gly Lys Cys Ile Tyr Phe
 1 5 10

<210> 267

20 <211> 14

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

25 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 267

Ala Trp Arg Cys Met Trp Phe Ser Asp Val Cys Thr Pro Gly
 1 5 10

<210> 268

30 <211> 14

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

35 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 268

Trp Phe Arg Cys Phe Leu Asp Ala Asp Trp Cys Thr Ser Val
 1 5 10

<210> 269

40 <211> 14

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

45 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 269

Glu Lys Ile Cys Gln Met Trp Ser Trp Met Cys Ala Pro Pro
 1 5 10

<210> 270

55 <211> 14

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

5 <400> 270
 Trp Phe Tyr Cys His Leu Asn Lys Ser Glu Cys Thr Glu Pro
 1 5 10

<210> 271
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

15 <400> 271
 Phe Trp Arg Cys Ala Ile Gly Ile Asp Lys Cys Lys Arg Val
 1 5 10

<210> 272
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

25 <400> 272
 Asn Leu Gly Cys Lys Trp Tyr Glu Val Trp Cys Phe Thr Tyr
 1 5 10

30 <210> 273
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

35 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 273
 Ile Asp Leu Cys Asn Met Trp Asp Gly Met Cys Tyr Pro Pro
 1 5 10

40 <210> 274
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

45 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 274
 Glu Met Pro Cys Asn Ile Trp Gly Trp Met Cys Pro Pro Val
 1 5 10

50 <210> 275
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

55

<220>

<223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

5 <400> 275

Trp Phe Arg Cys Val Leu Thr Gly Ile Val Asp Trp Ser Glu Cys Phe
1 5 10 15

Gly Leu

<210> 276

<211> 18

10 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

15

<400> 276

Gly Phe Ser Cys Thr Phe Gly Leu Asp Glu Phe Tyr Val Asp Cys Ser
1 5 10 15

Pro Phe

<210> 277

<211> 18

20 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

25 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 277

Leu Pro Trp Cys His Asp Gln Val Asn Ala Asp Trp Gly Phe Cys Met
1 5 10 15

Leu Trp

<210> 278

<211> 18

30 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

35 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 278

Tyr Pro Thr Cys Ser Glu Lys Phe Trp Ile Tyr Gly Gln Thr Cys Val
1 5 10 15

Leu Trp

<210> 279

<211> 18

40 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

45

<220>

<223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 279

Leu Gly Pro Cys Pro Ile His His Gly Pro Trp Pro Gln Tyr Cys Val
 1 5 10 15

5 Tyr Trp

<210> 280

<211> 18

<212> PRT

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

15 <400> 280

Pro Phe Pro Cys Glu Thr His Gln Ile Ser Trp Leu Gly His Cys Leu
 1 5 10 15

Ser Phe

<210> 281

<211> 18

<212> PRT

20 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

25

<400> 281

His Trp Gly Cys Glu Asp Leu Met Trp Ser Trp His Pro Leu Cys Arg
 1 5 10 15

Arg Pro

<210> 282

<211> 18

<212> PRT

30 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

35

<400> 282

Leu Pro Leu Cys Asp Ala Asp Met Met Pro Thr Ile Gly Phe Cys Val
 1 5 10 15

Ala Tyr

<210> 283

<211> 18

<212> PRT

40 <213> Secuencia artificial

45 <220>

<223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 283

Ser His Trp Cys Glu Thr Thr Phe Trp Met Asn Tyr Ala Lys Cys Val
 1 5 10 15

His Ala

5

<210> 284

<211> 18

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

10

<220>

<223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 284

Leu Pro Lys Cys Thr His Val Pro Phe Asp Gln Gly Gly Phe Cys Leu
 1 5 10 15

15

Trp Tyr

<210> 285

<211> 18

<212> PRT

20

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

25

<400> 285

Phe Ser Ser Cys Trp Ser Pro Val Ser Arg Gln Asp Met Phe Cys Val
 1 5 10 15

Phe Tyr

<210> 286

<211> 17

30

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

35

<400> 286

Ser His Lys Cys Glu Tyr Ser Gly Trp Leu Gln Pro Leu Cys Tyr Arg
 1 5 10 15

Pro

<210> 287

<211> 18

40

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

45

<223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 287

Pro Trp Trp Cys Gln Asp Asn Tyr Val Gln His Met Leu His Cys Asp
 1 5 10 15

Ser Pro

5 <210> 288
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 288

Trp Phe Arg Cys Met Leu Met Asn Ser Phe Asp Ala Phe Gln Cys Val
 1 5 10 15

Ser Tyr

15 <210> 289
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 289

Pro Asp Ala Cys Arg Asp Gln Pro Trp Tyr Met Phe Met Gly Cys Met
 1 5 10 15

Leu Gly

25 <210> 290
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

35 <400> 290

Phe Leu Ala Cys Phe Val Glu Phe Glu Leu Cys Phe Asp Ser
 1 5 10

40 <210> 291
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

45 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 291

Ser Ala Tyr Cys Ile Ile Thr Glu Ser Asp Pro Tyr Val Leu Cys Val
 1 5 10 15

Pro Leu

5 <210> 292
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 292
 Pro Ser Ile Cys Glu Ser Tyr Ser Thr Met Trp Leu Pro Met Cys Gln
 1 5 10 15

His Asn

15 <210> 293
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 293
 Trp Leu Asp Cys His Asp Asp Ser Trp Ala Trp Thr Lys Met Cys Arg
 1 5 10 15

Ser His

25 <210> 294
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 294
 Tyr Leu Asn Cys Val Met Met Asn Thr Ser Pro Phe Val Glu Cys Val
 1 5 10 15

Phe Asn

35 <210> 295
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

45 <400> 295

Tyr Pro Trp Cys Asp Gly Phe Met Ile Gln Gln Gly Ile Thr Cys Met
 1 5 10 15

Phe Tyr

5 <210> 296
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 296
 Phe Asp Tyr Cys Thr Trp Leu Asn Gly Phe Lys Asp Trp Lys Cys Trp
 1 5 10 15

Ser Arg

15 <210> 297
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 297
 Leu Pro Leu Cys Asn Leu Lys Glu Ile Ser His Val Gln Ala Cys Val
 1 5 10 15

Leu Phe

25 <210> 298
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 298
 Ser Pro Glu Cys Ala Phe Ala Arg Trp Leu Gly Ile Glu Gln Cys Gln
 1 5 10 15

Arg Asp

35 <210> 299
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 299

Tyr Pro Gln Cys Phe Asn Leu His Leu Leu Glu Trp Thr Glu Cys Asp
 1 5 10 15

Trp Phe

5 <210> 300
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 300
 Arg Trp Arg Cys Glu Ile Tyr Asp Ser Glu Phe Leu Pro Lys Cys Trp
 1 5 10 15

Phe Phe

15 <210> 301
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 301
 Leu Val Gly Cys Asp Asn Val Trp His Arg Cys Lys Leu Phe
 1 5 10 .

25 <210> 302
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 302
 Ala Gly Trp Cys His Val Trp Gly Glu Met Phe Gly Met Gly Cys Ser
 1 5 10 15

Ala Leu

35 <210> 303
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

45 <400> 303
 His His Glu Cys Glu Trp Met Ala Arg Trp Met Ser Leu Asp Cys Val

1 5 10 15

Gly Leu

5 <210> 304
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 304
 Phe Pro Met Cys Gly Ile Ala Gly Met Lys Asp Phe Asp Phe Cys Val
 1 5 10 15

Trp Tyr

15 <210> 305
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 305
 Arg Asp Asp Cys Thr Phe Trp Pro Glu Trp Leu Trp Lys Leu Cys Glu
 1 5 10 15

Arg Pro

25 <210> 306
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 306
 Tyr Asn Phe Cys Ser Tyr Leu Phe Gly Val Ser Lys Glu Ala Cys Gln
 1 5 10 15

Leu Pro

35 <210> 307
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 307

Ala His Trp Cys Glu Gln Gly Pro Trp Arg Tyr Gly Asn Ile Cys Met
 1 5 10 15

Ala Tyr

5 <210> 308
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 308
 Asn Leu Val Cys Gly Lys Ile Ser Ala Trp Gly Asp Glu Ala Cys Ala
 1 5 10 15

Arg Ala

15 <210> 309
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 309
 His Asn Val Cys Thr Ile Met Gly Pro Ser Met Lys Trp Phe Cys Trp
 1 5 10 15

Asn Asp

25 <210> 310
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 310
 Asn Asp Leu Cys Ala Met Trp Gly Trp Arg Asn Thr Ile Trp Cys Gln
 1 5 10 15

35 Asn Ser

40 <210> 311
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

45 <400> 311

Pro Pro Phe Cys Gln Asn Asp Asn Asp Met Leu Gln Ser Leu Cys Lys
 1 5 10 15

Leu Leu

5 <210> 312
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 312
 Trp Tyr Asp Cys Asn Val Pro Asn Glu Leu Leu Ser Gly Leu Cys Arg
 1 5 10 15

Leu Phe

15 <210> 313
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 313
 Tyr Gly Asp Cys Asp Gln Asn His Trp Met Trp Pro Phe Thr Cys Leu
 1 5 10 15

Ser Leu

25 <210> 314
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 314
 Gly Trp Met Cys His Phe Asp Leu His Asp Trp Gly Ala Thr Cys Gln
 1 5 10 15

Pro Asp

35 <210> 315
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 315

Tyr Phe His Cys Met Phe Gly Gly His Glu Phe Glu Val His Cys Glu
 1 5 10 15

Ser Phe

5 <210> 316
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 316
 Ala Tyr Trp Cys Trp His Gly Gln Cys Val Arg Phe
 1 5 10

15 <210> 317
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 317
 Ser Glu His Trp Thr Phe Thr Asp Trp Asp Gly Asn Glu Trp Trp Val
 1 5 10 15

Arg Pro Phe

25 <210> 318
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 318
 Met Glu Met Leu Asp Ser Leu Phe Glu Leu Leu Lys Asp Met Val Pro
 1 5 10 15

Ile Ser Lys Ala
 20

35 <210> 319
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 319

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

Lys Phe Thr

5 <210> 320
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 320
 Ser Pro Glu Asn Leu Leu Asn Asp Leu Tyr Ile Leu Met Thr Lys Gln
 1 5 10 15

Glu Trp Tyr Gly
 20

15 <210> 321
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 321
 Phe His Trp Glu Glu Gly Ile Pro Phe His Val Val Thr Pro Tyr Ser
 1 5 10 15

Tyr Asp Arg Met
 20

25 <210> 322
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 322
 Lys Arg Leu Leu Glu Gln Phe Met Asn Asp Leu Ala Glu Leu Val Ser
 1 5 10 15

35 Gly His Ser

40 <210> 323
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 323

Asp Thr Arg Asp Ala Leu Phe Gln Glu Phe Tyr Glu Phe Val Arg Ser
 1 5 10 15

Arg Leu Val Ile
 20

5 <210> 324
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 324

Arg Met Ser Ala Ala Pro Arg Pro Leu Thr Tyr Arg Asp Ile Met Asp
 1 5 10 15

Gln Tyr Trp His
 20

15 <210> 325
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 325

Asn Asp Lys Ala His Phe Phe Glu Met Phe Met Phe Asp Val His Asn
 1 5 10 15

Phe Val Glu Ser
 20

25 <210> 326
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 326

Gln Thr Gln Ala Gln Lys Ile Asp Gly Leu Trp Glu Leu Leu Gln Ser
 1 5 10 15

Ile Arg Asn Gln
 20

35 <210> 327
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40 <220>

<223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 327

Met Leu Ser Glu Phe Glu Glu Phe Leu Gly Asn Leu Val His Arg Gln
 1 5 10 15

Glu Ala

5

<210> 328
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10

<220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 328

Tyr Thr Pro Lys Met Gly Ser Glu Trp Thr Ser Phe Trp His Asn Arg
 1 5 10 15

15

Ile His Tyr Leu
 20

<210> 329
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20

<220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

25

<400> 329

Leu Asn Asp Thr Leu Leu Arg Glu Leu Lys Met Val Leu Asn Ser Leu
 1 5 10 15

Ser Asp Met Lys
 20

<210> 330
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30

<220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

35

<400> 330

Phe Asp Val Glu Arg Asp Leu Met Arg Trp Leu Glu Gly Phe Met Gln
 1 5 10 15

Ser Ala Ala Thr
 20

<210> 331
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40

<220>

<223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

5 <400> 331

His His Gly Trp Asn Tyr Leu Arg Lys Gly Ser Ala Pro Gln Trp Phe
1 5 10 15

Glu Ala Trp Val
20

<210> 332

<211> 20

10 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

15

<400> 332

Val Glu Ser Leu His Gln Leu Gln Met Trp Leu Asp Gln Lys Leu Ala
1 5 10 15

Ser Gly Pro His
20

<210> 333

20 <211> 18

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

25 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 333

Arg Ala Thr Leu Leu Lys Asp Phe Trp Gln Leu Val Glu Gly Tyr Gly
1 5 10 15

Asp Asn

30 <210> 334

<211> 16

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

35 <220>

<223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 334

Glu Glu Leu Leu Arg Glu Phe Tyr Arg Phe Val Ser Ala Phe Asp Tyr
1 5 10 15

40

<210> 335

<211> 20

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

45

<220>

ES 2 399 618 T3

<223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 335

Gly Leu Leu Asp Glu Phe Ser His Phe Ile Ala Glu Gln Phe Tyr Gln
1 5 10 15

Met Pro Gly Gly
20

5

<210> 336

<211> 20

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

10

<220>

<223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 336

Tyr Arg Glu Met Ser Met Leu Glu Gly Leu Leu Asp Val Leu Glu Arg
1 5 10 15

Leu Gln His Tyr
20

15

<210> 337

<211> 20

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20

<220>

<223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

25

<400> 337

His Asn Ser Ser Gln Met Leu Leu Ser Glu Leu Ile Met Leu Val Gly
1 5 10 15

Ser Met Met Gln
20

<210> 338

<211> 20

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

30

<220>

<223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

35

<400> 338

Trp Arg Glu His Phe Leu Asn Ser Asp Tyr Ile Arg Asp Lys Leu Ile
1 5 10 15

Ala Ile Asp Gly
20

<210> 339

<211> 19

<212> PRT

40

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

5

<400> 339

Gln Phe Pro Phe Tyr Val Phe Asp Asp Leu Pro Ala Gln Leu Glu Tyr
 1 5 10 15

Trp Ile Ala

10 <210> 340
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 340

Glu Phe Phe His Trp Leu His Asn His Arg Ser Glu Val Asn His Trp
 1 5 10 15

Leu Asp Met Asn
 20

20 <210> 341
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 341

Glu Ala Leu Phe Gln Asn Phe Phe Arg Asp Val Leu Thr Leu Ser Glu
 1 5 10 15

30 Arg Glu Tyr

<210> 342
 <211> 20
 <212> PRT

35 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

40 <400> 342

Gln Tyr Trp Glu Gln Gln Trp Met Thr Tyr Phe Arg Glu Asn Gly Leu
 1 5 10 15

His Val Gln Tyr
 20

<210> 343

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

5 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 343

Asn Gln Arg Met Met Leu Glu Asp Leu Trp Arg Ile Met Thr Pro Met
 1 5 10 15

Phe Gly Arg Ser
 20

10 <210> 344
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 344

Phe Leu Asp Glu Leu Lys Ala Glu Leu Ser Arg His Tyr Ala Leu Asp
 1 5 10 15

Asp Leu Asp Glu
 20

20 <210> 345
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

30 <400> 345

Gly Lys Leu Ile Glu Gly Leu Leu Asn Glu Leu Met Gln Leu Glu Thr
 1 5 10 15

Phe Met Pro Asp
 20

35 <210> 346
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 346

Ile Leu Leu Leu Asp Glu Tyr Lys Lys Asp Trp Lys Ser Trp Phe
 1 5 10 15

<210> 347

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

5 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 347

Gln Gly His Cys Thr Arg Trp Pro Trp Met Cys Pro Pro Tyr Gly Ser
 1 5 10 15

Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser Gly Ser Thr Ala Ser Ser Gly Ser Gly
 20 25 30

Ser Ala Thr Gly Gln Gly His Cys Thr Arg Trp Pro Trp Met Cys Pro
 35 40 45

Pro Tyr
 50

10 <210> 348
 <211> 43
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 348

Trp Tyr Pro Cys Tyr Glu Gly His Phe Trp Cys Tyr Asp Leu Gly Ser
 1 5 10 15

Gly Ser Thr Ala Ser Ser Gly Ser Gly Ser Ala Thr Gly Trp Tyr Pro
 20 25 30

Cys Tyr Glu Gly His Phe Trp Cys Tyr Asp Leu
 35 40

20 <210> 349
 <211> 50
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

30 <400> 349

His Thr Pro Cys Pro Trp Phe Ala Pro Leu Cys Val Glu Trp Gly Ser
 1 5 10 15

Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser Gly Ser Thr Ala Ser Ser Gly Ser Gly

ES 2 399 618 T3

20 25 30

Ser Ala Thr Gly His Thr Pro Cys Pro Trp Phe Ala Pro Leu Cys Val
 35 40 45

Glu Trp
 50

5 <210> 350
 <211> 50
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 350
 Pro Asp Trp Cys Ile Asp Pro Asp Trp Trp Cys Lys Phe Trp Gly Ser
 1 5 10 15

Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser Gly Ser Thr Ala Ser Ser Gly Ser Gly
 20 25 30

Ser Ala Thr Gly Pro Asp Trp Cys Ile Asp Pro Asp Trp Trp Cys Lys
 35 40 45

Phe Trp
 50

15 <210> 351
 <211> 50
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 351
 Ala Asn Trp Cys Val Ser Pro Asn Trp Phe Cys Met Val Met Gly Ser
 1 5 10 15

Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser Gly Ser Thr Ala Ser Ser Gly Ser Gly
 20 25 30

Ser Ala Thr Gly Ala Asn Trp Cys Val Ser Pro Asn Trp Phe Cys Met
 35 40 45

Val Met
 50

25 <210> 352

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

5 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 352
 Pro Asp Trp Cys Ile Asp Pro Asp Trp Trp Cys Lys Phe Trp Gly Ser
 1 5 10 15

Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser Gly Ser Thr Ala Ser Ser Gly Ser Gly
 20 25 30

Ser Ala Thr Gly Pro Asp Trp Cys Ile Asp Pro Asp Trp Trp Cys Lys
 35 40 45

Phe Trp
 50

10 <210> 353
 <211> 50
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 353
 His Trp Ala Cys Gly Tyr Trp Pro Trp Ser Cys Lys Trp Val Gly Ser
 1 5 10 15

Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser Gly Ser Thr Ala Ser Ser Gly Ser Gly
 20 25 30

Ser Ala Thr Gly His Trp Ala Cys Gly Tyr Trp Pro Trp Ser Cys Lys
 35 40 45

Trp Val
 50

20 <210> 354
 <211> 50
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

30 <400> 354
 Lys Lys His Cys Gln Ile Trp Thr Trp Met Cys Ala Pro Lys Gly Ser
 1 5 10 15

Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser Gly Ser Thr Ala Ser Ser Gly Ser Gly
 20 25 30

Ser Ala Thr Gly Gln Gly His Cys Thr Arg Trp Pro Trp Met Cys Pro
 35 40 45

Pro Tyr
 50

5 <210> 355
 <211> 50
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 355

Gln Gly His Cys Thr Arg Trp Pro Trp Met Cys Pro Pro Tyr Gly Ser
 1 5 10 15

Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser Gly Ser Thr Ala Ser Ser Gly Ser Gly
 20 25 30

Ser Ala Thr Gly Lys Lys His Cys Gln Ile Trp Thr Trp Met Cys Ala
 35 40 45

Pro Lys
 50

15 <210> 356
 <211> 50
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 356

Lys Lys His Cys Gln Ile Trp Thr Trp Met Cys Ala Pro Lys Gly Ser
 1 5 10 15

Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser Gly Ser Thr Ala Ser Ser Gly Ser Gly
 20 25 30

Ser Ala Thr Gly Gln Gly His Cys Thr Arg Trp Pro Trp Met Cys Pro
 35 40 45

Pro Tyr
 50

<210> 357
 <211> 36
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 5
 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina
 <400> 357
 Lys Lys His Cys Gln Ile Trp Thr Trp Met Cys Ala Pro Lys Gly Gly
 1 5 10 15
 Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gln Gly His Cys Thr Arg Trp Pro Trp Met
 20 25 30
 Cys Pro Pro Tyr
 35
 10
 <210> 358
 <211> 34
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 15
 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina
 <400> 358
 Gln Gly His Cys Thr Arg Trp Pro Trp Met Cys Pro Pro Tyr Gly Gly
 1 5 10 15
 Gly Gly Gly Gly Lys Lys His Cys Gln Ile Trp Thr Trp Met Cys Ala
 20 25 30
 Pro Lys
 25
 <210> 359
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina
 30
 <400> 359
 Val Ala Leu His Gly Gln Cys Thr Arg Trp Pro Trp Met Cys Pro Pro
 1 5 10 15
 Gln Arg Glu Gly
 20
 35
 <210> 360
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>

<223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 360

Tyr Pro Glu Gln Gly Leu Cys Thr Arg Trp Pro Trp Met Cys Pro Pro
 1 5 10 15

Gln Thr Leu Ala
 20

5

<210> 361

<211> 20

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

10

<220>

<223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 361

Gly Leu Asn Gln Gly His Cys Thr Arg Trp Pro Trp Met Cys Pro Pro
 1 5 10 15

Gln Asp Ser Asn
 20

15

<210> 362

<211> 20

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20

<220>

<223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

25

<400> 362

Met Ile Thr Gln Gly Gln Cys Thr Arg Trp Pro Trp Met Cys Pro Pro
 1 5 10 15

Gln Pro Ser Gly
 20

30

<210> 363

<211> 20

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

35

<400> 363

Ala Gly Ala Gln Glu His Cys Thr Arg Trp Pro Trp Met Cys Ala Pro
 1 5 10 15

Asn Asp Trp Ile
 20

40

<210> 364

<211> 20

<212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 364

Gly Val Asn Gln Gly Gln Cys Thr Arg Trp Arg Trp Met Cys Pro Pro
 1 5 10 15

Asn Gly Trp Glu
 20

10 <210> 365
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 365

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

Glu Gly Trp Glu
 20

20 <210> 366
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 366

Ile Leu Glu Gln Ala Gln Cys Thr Arg Trp Pro Trp Met Cys Pro Pro
 1 5 10 15

Gln Arg Gly Gly
 20

30 <210> 367
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

35 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

40 <400> 367

Thr Gln Thr His Ala Gln Cys Thr Arg Trp Pro Trp Met Cys Pro Pro
 1 5 10 15

Gln Trp Glu Gly
 20

ES 2 399 618 T3

<210> 368
 <211> 20
 <212> PRT
 5 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

 10 <400> 368
 Val Val Thr Gln Gly His Cys Thr Leu Trp Pro Trp Met Cys Pro Pro
 1 5 10 15

 Gln Arg Trp Arg
 20

 <210> 369
 <211> 20
 15 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

 20 <400> 369
 Ile Tyr Pro His Asp Gln Cys Thr Arg Trp Pro Trp Met Cys Pro Pro
 1 5 10 15

 Gln Pro Tyr Pro
 20

 <210> 370
 <211> 20
 25 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 30 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

 <400> 370
 Ser Tyr Trp Gln Gly Gln Cys Thr Arg Trp Pro Trp Met Cys Pro Pro
 1 5 10 15
 Gln Trp Arg Gly
 20

 35 <210> 371
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 40 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

 <400> 371

Met Trp Gln Gln Gly His Cys Thr Arg Trp Pro Trp Met Cys Pro Pro
 1 5 10 15

Gln Gly Trp Gly
 20

5 <210> 372
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 372

Glu Phe Thr Gln Trp His Cys Thr Arg Trp Pro Trp Met Cys Pro Pro
 1 5 10 15

Gln Arg Ser Gln
 20

15 <210> 373
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 373

Leu Asp Asp Gln Trp Gln Cys Thr Arg Trp Pro Trp Met Cys Pro Pro
 1 5 10 15

Gln Gly Phe Ser
 20

25 <210> 374
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 374

Tyr Gln Thr Gln Gly Leu Cys Thr Arg Trp Pro Trp Met Cys Pro Pro
 1 5 10 15

Gln Ser Gln Arg
 20

35 <210> 375
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40 <220>

ES 2 399 618 T3

<223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 375

Glu Ser Asn Gln Gly Gln Cys Thr Arg Trp Pro Trp Met Cys Pro Pro
1 5 10 15

Gln Gly Gly Trp
20

5

<210> 376

<211> 20

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

10

<220>

<223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 376

Trp Thr Asp Arg Gly Pro Cys Thr Arg Trp Pro Trp Met Cys Pro Pro
1 5 10 15

Gln Ala Asn Gly
20

15

<210> 377

<211> 20

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20

<220>

<223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 377

Val Gly Thr Gln Gly Gln Cys Thr Arg Trp Pro Trp Met Cys Pro Pro
1 5 10 15

25

Tyr Glu Thr Gly

<210> 378

<211> 20

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

30

<220>

<223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

35

<400> 378

Pro Tyr Glu Gln Gly Lys Cys Thr Arg Trp Pro Trp Met Cys Pro Pro
1 5 10 15

Tyr Glu Val Glu
20

40

<210> 379

<211> 20

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

5 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 379

Ser Glu Tyr Gln Gly Leu Cys Thr Arg Trp Pro Trp Met Cys Pro Pro
 1 5 10 15

Gln Gly Trp Lys
 20

<210> 380

10 <211> 20

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 380

Thr Phe Ser Gln Gly His Cys Thr Arg Trp Pro Trp Met Cys Pro Pro
 1 5 10 15

Gln Gly Trp Gly
 20

20 <210> 381

<211> 20

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

25 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 381

Pro Gly Ala His Asp His Cys Thr Arg Trp Pro Trp Met Cys Pro Pro
 1 5 10 15

Gln Ser Arg Tyr
 20

30 <210> 382

<211> 20

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

35 <220>

<223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 382

Val Ala Glu Glu Trp His Cys Arg Arg Trp Pro Trp Met Cys Pro Pro
 1 5 10 15

Gln Asp Trp Arg
 20

40

ES 2 399 618 T3

<210> 383
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 5
 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina
 <400> 383
 Val Gly Thr Gln Gly His Cys Thr Arg Trp Pro Trp Met Cys Pro Pro
 1 5 10 15
 Gln Pro Ala Gly
 10 20
 <210> 384
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 15
 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina
 <400> 384
 Glu Glu Asp Gln Ala His Cys Arg Ser Trp Pro Trp Met Cys Pro Pro
 1 5 10 15
 Gln Gly Trp Val
 20
 <210> 385
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 25
 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina
 <400> 385
 Ala Asp Thr Gln Gly His Cys Thr Arg Trp Pro Trp Met Cys Pro Pro
 1 5 10 15
 Gln His Trp Phe
 20
 <210> 386
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 35
 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina
 <400> 386

Ser Gly Pro Gln Gly His Cys Thr Arg Trp Pro Trp Met Cys Ala Pro
 1 5 10 15

Gln Gly Trp Phe
 20

5 <210> 387
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 387
 Thr Leu Val Gln Gly His Cys Thr Arg Trp Pro Trp Met Cys Pro Pro
 1 5 10 15

Gln Arg Trp Val
 20

15 <210> 388
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 388
 Gly Met Ala His Gly Lys Cys Thr Arg Trp Ala Trp Met Cys Pro Pro
 1 5 10 15

Gln Ser Trp Lys
 20

25 <210> 389
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 389
 Glu Leu Tyr His Gly Gln Cys Thr Arg Trp Pro Trp Met Cys Pro Pro
 1 5 10 15

Gln Ser Trp Ala
 20

35 <210> 390
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40

<220>

<223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 390

Val Ala Asp His Gly His Cys Thr Arg Trp Pro Trp Met Cys Pro Pro
 1 5 10 15

Gln Gly Trp Gly
 20

5

<210> 391

<211> 20

<212> PRT

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

15

<400> 391

Pro Glu Ser Gln Gly His Cys Thr Arg Trp Pro Trp Met Cys Pro Pro
 1 5 10 15

Gln Gly Trp Gly
 20

<210> 392

<211> 20

<212> PRT

20 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

25

<400> 392

Ile Pro Ala His Gly His Cys Thr Arg Trp Pro Trp Met Cys Pro Pro
 1 5 10 15

Gln Arg Trp Arg
 20

<210> 393

<211> 20

<212> PRT

30 <213> Secuencia artificial

<220>

35 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 393

Phe Thr Val His Gly His Cys Thr Arg Trp Pro Trp Met Cys Pro Pro
 1 5 10 15

Tyr Gly Trp Val
 20

40

<210> 394

<211> 20

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

5 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 394

Pro Asp Phe Pro Gly His Cys Thr Arg Trp Arg Trp Met Cys Pro Pro
 1 5 10 15

Gln Gly Trp Glu
 20

10 <210> 395
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 395

Gln Leu Trp Gln Gly Pro Cys Thr Gln Trp Pro Trp Met Cys Pro Pro
 1 5 10 15

Lys Gly Arg Tyr
 20

20 <210> 396
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

25 <220>

<223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 396

His Ala Asn Asp Gly His Cys Thr Arg Trp Gln Trp Met Cys Pro Pro
 1 5 10 15

Gln Trp Gly Gly
 20

30 <210> 397
 <211> 20
 <212> PRT

35 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

40 <400> 397

Glu Thr Asp His Gly Leu Cys Thr Arg Trp Pro Trp Met Cys Pro Pro
 1 5 10 15

Tyr Gly Ala Arg
 20

ES 2 399 618 T3

- 5 <210> 398
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
- <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina
- 10 <400> 398
 Gly Thr Trp Gln Gly Leu Cys Thr Arg Trp Pro Trp Met Cys Pro Pro
 1 5 10 15
 Gln Gly Trp Gln
 20
- 15 <210> 399
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
- <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina
- 20 <400> 399
 Val Ala Thr Gln Gly Gln Cys Thr Arg Trp Pro Trp Met Cys Pro Pro
 1 5 10 15
 Gln Gly Trp Gly
 20
- 25 <210> 400
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
- <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina
- 30 <400> 400
 Val Ala Thr Gln Gly Gln Cys Thr Arg Trp Pro Trp Met Cys Pro Pro
 1 5 10 15
 Gln Arg Trp Gly
 20
- 35 <210> 401
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
- 40 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina
- <400> 401

Gln Arg Glu Trp Tyr Pro Cys Tyr Gly Gly His Leu Trp Cys Tyr Asp
 1 5 10 15

Leu His Lys Ala
 20

5 <210> 402
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 402
 Ile Ser Ala Trp Tyr Ser Cys Tyr Ala Gly His Phe Trp Cys Trp Asp
 1 5 10 15

Leu Lys Gln Lys
 20

15 <210> 403
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 403
 Trp Thr Gly Trp Tyr Gln Cys Tyr Gly Gly His Leu Trp Cys Tyr Asp
 1 5 10 15

Leu Arg Arg Lys
 20

25 <210> 404
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 404
 Lys Thr Phe Trp Tyr Pro Cys Tyr Asp Gly His Phe Trp Cys Tyr Asn
 1 5 10 15

Leu Lys Ser Ser
 20

35 <210> 405
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 405

Glu Ser Arg Trp Tyr Pro Cys Tyr Glu Gly His Leu Trp Cys Phe Asp
 1 5 10 15

Leu Thr Glu Thr
 20

5 <210> 406
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 406

Met Glu Met Leu Asp Ser Leu Phe Glu Leu Leu Lys Asp Met Val Pro
 1 5 10 15

Ile Ser Lys Ala
 20

15 <210> 407
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 407

Arg Met Glu Met Leu Glu Ser Leu Leu Glu Leu Leu Lys Glu Ile Val
 1 5 10 15

Pro Met Ser Lys Ala Gly
 20

25 <210> 408
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 408

Arg Met Glu Met Leu Glu Ser Leu Leu Glu Leu Leu Lys Glu Ile Val
 1 5 10 15

Pro Met Ser Lys Ala Arg
 20

35 <210> 409
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<220>

<223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 409

Arg Met Glu Met Leu Glu Ser Leu Leu Glu Leu Leu Lys Asp Ile Val
 1 5 10 15

Pro Met Ser Lys Pro Ser

5

20

<210> 410

<211> 22

10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

15

<400> 410

Gly Met Glu Met Leu Glu Ser Leu Phe Glu Leu Leu Gln Glu Ile Val
 1 5 10 15

Pro Met Ser Lys Ala Pro
 20

<210> 411

<211> 22

20

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

25

<400> 411

Arg Met Glu Met Leu Glu Ser Leu Leu Glu Leu Leu Lys Asp Ile Val
 1 5 10 15

Pro Ile Ser Asn Pro Pro
 20

<210> 412

<211> 22

30

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

35

<400> 412

Arg Ile Glu Met Leu Glu Ser Leu Leu Glu Leu Leu Gln Glu Ile Val
 1 5 10 15

Pro Ile Ser Lys Ala Glu
 20

5 <210> 413
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 413
 Arg Met Glu Met Leu Gln Ser Leu Leu Glu Leu Leu Lys Asp Ile Val
 1 5 10 15

Pro Met Ser Asn Ala Arg
 20

15 <210> 414
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 414
 Arg Met Glu Met Leu Glu Ser Leu Leu Glu Leu Leu Lys Glu Ile Val
 1 5 10 15

Pro Thr Ser Asn Gly Thr
 20

25 <210> 415
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 415
 Arg Met Glu Met Leu Glu Ser Leu Phe Glu Leu Leu Lys Glu Ile Val
 1 5 10 15

Pro Met Ser Lys Ala Gly
 20

35 <210> 416
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40 <220>

<223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 416

Arg Met Glu Met Leu Gly Ser Leu Leu Glu Leu Leu Lys Glu Ile Val
 1 5 10 15

Pro Met Ser Lys Ala Arg
 20

5

<210> 417

<211> 22

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

10

<220>

<223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 417

Gln Met Glu Leu Leu Asp Ser Leu Phe Glu Leu Leu Lys Glu Ile Val
 1 5 10 15

Pro Lys Ser Gln Pro Ala
 20

15

<210> 418

<211> 22

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20

<220>

<223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 418

Arg Met Glu Met Leu Asp Ser Leu Leu Glu Leu Leu Lys Glu Ile Val
 1 5 10 15

25

Pro Met Ser Asn Ala Arg
 20

<210> 419

<211> 22

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

30

<220>

<223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

35

<400> 419

Arg Met Glu Met Leu Glu Ser Leu Leu Glu Leu Leu His Glu Ile Val
 1 5 10 15

Pro Met Ser Gln Ala Gly
 20

<210> 420

<211> 22

40

<212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 5 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 420
 Gln Met Glu Met Leu Glu Ser Leu Leu Gln Leu Leu Lys Glu Ile Val
 1 5 10 15
 Pro Met Ser Lys Ala Ser
 20

10 <210> 421
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 421
 Arg Met Glu Met Leu Asp Ser Leu Leu Glu Leu Leu Lys Asp Met Val
 1 5 10 15
 Pro Met Thr Thr Gly Ala
 20

20 <210> 422
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 422
 Arg Ile Glu Met Leu Glu Ser Leu Leu Glu Leu Leu Lys Asp Met Val
 1 5 10 15
 Pro Met Ala Asn Ala Ser
 20

30 <210> 423
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

35 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

40 <400> 423
 Arg Met Glu Met Leu Glu Ser Leu Leu Gln Leu Leu Asn Glu Ile Val
 1 5 10 15
 Pro Met Ser Arg Ala Arg
 20

- 5 <210> 424
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
- <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina
- 10 <400> 424
 Arg Met Glu Met Leu Glu Ser Leu Phe Asp Leu Leu Lys Glu Leu Val
 1 5 10 15
 Pro Met Ser Lys Gly Val
 20
- 15 <210> 425
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
- <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina
- 20 <400> 425
 Arg Ile Glu Met Leu Glu Ser Leu Leu Glu Leu Leu Lys Asp Ile Val
 1 5 10 15
 Pro Ile Gln Lys Ala Arg
 20
- 25 <210> 426
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
- <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina
- 30 <400> 426
 Arg Met Glu Leu Leu Glu Ser Leu Phe Glu Leu Leu Lys Asp Met Val
 1 5 10 15
 Pro Met Ser Asp Ser Ser
 20
- 35 <210> 427
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
- 40 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina
- <400> 427
 Arg Met Glu Met Leu Glu Ser Leu Leu Glu Val Leu Gln Glu Ile Val

1 5 10 15

Pro Arg Ala Lys Gly Ala
20

5 <210> 428
<211> 22
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 428
Arg Met Glu Met Leu Asp Ser Leu Leu Gln Leu Leu Asn Glu Ile Val
1 5 10 15

Pro Met Ser His Ala Arg
20

15 <210> 429
<211> 22
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 429
Arg Met Glu Met Leu Glu Ser Leu Leu Glu Leu Leu Lys Asp Ile Val
1 5 10 15

Pro Met Ser Asn Ala Gly
20

25 <210> 430
<211> 22
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

30 <220>
<223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 430
Arg Met Glu Met Leu Gln Ser Leu Phe Glu Leu Leu Lys Gly Met Val
1 5 10 15

Pro Ile Ser Lys Ala Gly
20

35 <210> 431
<211> 22
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

40 <220>
<223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 431

Arg Met Glu Met Leu Glu Ser Leu Leu Glu Leu Leu Lys Glu Ile Val
 1 5 10 15

Pro Asn Ser Thr Ala Ala
 20

5 <210> 432

<211> 22

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

10 <220>

<223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 432

Arg Met Glu Met Leu Gln Ser Leu Leu Glu Leu Leu Lys Glu Ile Val
 1 5 10 15

Pro Ile Ser Lys Ala Gly
 20

15

<210> 433

<211> 22

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20

<220>

<223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 433

Arg Ile Glu Met Leu Asp Ser Leu Leu Glu Leu Leu Asn Glu Leu Val
 1 5 10 15

Pro Met Ser Lys Ala Arg
 20

25

<210> 434

<211> 20

<212> PRT

30

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

35

<400> 434

His His Gly Trp Asn Tyr Leu Arg Lys Gly Ser Ala Pro Gln Trp Phe
 1 5 10 15

Glu Ala Trp Val
 20

40

<210> 435

<211> 22

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 435

Gln Val Glu Ser Leu Gln Gln Leu Leu Met Trp Leu Asp Gln Lys Leu
 1 5 10 15

Ala Ser Gly Pro Gln Gly
 20

5

<210> 436

<211> 22

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

10

<220>

<223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 436

Arg Met Glu Leu Leu Glu Ser Leu Phe Glu Leu Leu Lys Glu Met Val
 1 5 10 15

Pro Arg Ser Lys Ala Val
 20

15

<210> 437

<211> 22

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20

<220>

<223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

25

<400> 437

Gln Ala Val Ser Leu Gln His Leu Leu Met Trp Leu Asp Gln Lys Leu
 1 5 10 15

Ala Ser Gly Pro Gln His
 20

30

<210> 438

<211> 22

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

35

<400> 438

Asp Glu Asp Ser Leu Gln Gln Leu Leu Met Trp Leu Asp Gln Lys Leu
 1 5 10 15

Ala Ser Gly Pro Gln Leu
 20

40

<210> 439

<211> 22

<212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 439
 Pro Val Ala Ser Leu Gln Gln Leu Leu Ile Trp Leu Asp Gln Lys Leu
 1 5 10 15

Ala Gln Gly Pro His Ala
 20

10 <210> 440
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 440
 Glu Val Asp Glu Leu Gln Gln Leu Leu Asn Trp Leu Asp His Lys Leu
 1 5 10 15

Ala Ser Gly Pro Leu Gln
 20

20 <210> 441
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 441
 Asp Val Glu Ser Leu Glu Gln Leu Leu Met Trp Leu Asp His Gln Leu
 1 5 10 15

30 Ala Ser Gly Pro His Gly
 20

35 <210> 442
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 442

Gln Val Asp Ser Leu Gln Gln Val Leu Leu Trp Leu Glu His Lys Leu
 1 5 10 15

Ala Leu Gly Pro Gln Val
 20

5 <210> 443
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 443

Gly Asp Glu Ser Leu Gln His Leu Leu Met Trp Leu Glu Gln Lys Leu
 1 5 10 15

Ala Leu Gly Pro His Gly
 20

15 <210> 444
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 444

Gln Ile Glu Met Leu Glu Ser Leu Leu Asp Leu Leu Arg Asp Met Val
 1 5 10 15

Pro Met Ser Asn Ala Phe
 20

25 <210> 445
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 445

Glu Val Asp Ser Leu Gln Gln Leu Leu Met Trp Leu Asp Gln Lys Leu
 1 5 10 15

Ala Ser Gly Pro Gln Ala
 20

35 <210> 446
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40

<220>

<223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 446

Glu Asp Glu Ser Leu Gln Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Asp Lys Met Leu
 1 5 10 15

Ser Ser Gly Pro Gln Val
 20

5

<210> 447

<211> 22

<212> PRT

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

15 <400> 447

Ala Met Asp Gln Leu His Gln Leu Leu Ile Trp Leu Asp His Lys Leu
 1 5 10 15

Ala Ser Gly Pro Gln Ala
 20

<210> 448

<211> 22

<212> PRT

20 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

25

<400> 448

Arg Ile Glu Met Leu Glu Ser Leu Leu Glu Leu Leu Asp Glu Ile Ala
 1 5 10 15

Leu Ile Pro Lys Ala Trp
 20

<210> 449

<211> 22

<212> PRT

30 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

35

<400> 449

Glu Val Val Ser Leu Gln His Leu Leu Met Trp Leu Glu His Lys Leu
 1 5 10 15

Ala Ser Gly Pro Asp Gly
 20

40 <210> 450

<211> 22

<212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 450
 Gly Gly Glu Ser Leu Gln Gln Leu Leu Met Trp Leu Asp Gln Gln Leu
 1 5 10 15

Ala Ser Gly Pro Gln Arg
 20

10 <210> 451
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 451
 Gly Val Glu Ser Leu Gln Gln Leu Leu Ile Phe Leu Asp His Met Leu
 1 5 10 15

Val Ser Gly Pro His Asp
 20

20 <210> 452
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 452
 Asn Val Glu Ser Leu Glu His Leu Met Met Trp Leu Glu Arg Leu Leu
 1 5 10 15

Ala Ser Gly Pro Tyr Ala
 20

30 <210> 453
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

35 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

40 <400> 453
 Gln Val Asp Ser Leu Gln Gln Leu Leu Ile Trp Leu Asp His Gln Leu
 1 5 10 15

Ala Ser Gly Pro Lys Arg
 20

<210> 454
 <211> 22
 <212> PRT
 5 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

 10 <400> 454
 Glu Val Glu Ser Leu Gln Gln Leu Leu Met Trp Leu Glu His Lys Leu
 1 5 10 15

 Ala Gln Gly Pro Gln Gly
 20

 <210> 455
 <211> 22
 15 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

 20 <400> 455
 Glu Val Asp Ser Leu Gln Gln Leu Leu Met Trp Leu Asp Gln Lys Leu
 1 5 10 15

 Ala Ser Gly Pro His Ala
 20

 <210> 456
 <211> 22
 25 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

 30 <400> 456
 Glu Val Asp Ser Leu Gln Gln Leu Leu Met Trp Leu Asp Gln Gln Leu
 1 5 10 15

 Ala Ser Gly Pro Gln Lys
 20

 35 <210> 457
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 40 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

 <400> 457

Gly Val Glu Gln Leu Pro Gln Leu Leu Met Trp Leu Glu Gln Lys Leu
 1 5 10 15

Ala Ser Gly Pro Gln Arg
 20

5 <210> 458
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 458
 Gly Glu Asp Ser Leu Gln Gln Leu Leu Met Trp Leu Asp Gln Gln Leu
 1 5 10 15

Ala Ala Gly Pro Gln Val
 20

15 <210> 459
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 459
 Ala Asp Asp Ser Leu Gln Gln Leu Leu Met Trp Leu Asp Arg Lys Leu
 1 5 10 15

Ala Ser Gly Pro His Val
 20

25 <210> 460
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 460
 Pro Val Asp Ser Leu Gln Gln Leu Leu Ile Trp Leu Asp Gln Lys Leu
 1 5 10 15

Ala Ser Gly Pro Gln Gly
 20

35 <210> 461
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40 <220>

<223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 461

Arg Ala Thr Leu Leu Lys Asp Phe Trp Gln Leu Val Glu Gly Tyr Gly
 1 5 10 15

Asp Asn

5

<210> 462

<211> 22

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

10

<220>

<223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 462

Asp Trp Arg Ala Thr Leu Leu Lys Glu Phe Trp Gln Leu Val Glu Gly
 1 5 10 15

Leu Gly Asp Asn Leu Val
 20

15

<210> 463

<211> 22

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20

<220>

<223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 463

Gln Ser Arg Ala Thr Leu Leu Lys Glu Phe Trp Gln Leu Val Glu Gly
 1 5 10 15

Leu Gly Asp Lys Gln Ala
 20

30

<210> 464

<211> 22

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

35

<400> 464

Asp Gly Arg Ala Thr Leu Leu Thr Glu Phe Trp Gln Leu Val Gln Gly
 1 5 10 15

Leu Gly Gln Lys Glu Ala
 20

40

<210> 465

<211> 22

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

5

<400> 465

Leu Ala Arg Ala Thr Leu Leu Lys Glu Phe Trp Gln Leu Val Glu Gly
 1 5 10 15

Leu Gly Glu Lys Val Val
 20

<210> 466

<211> 22

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

10

<220>

<223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

15

<400> 466

Gly Ser Arg Asp Thr Leu Leu Lys Glu Phe Trp Gln Leu Val Val Gly
 1 5 10 15

Leu Gly Asp Met Gln Thr
 20

20

<210> 467

<211> 22

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

25

<220>

<223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 467

Asp Ala Arg Ala Thr Leu Leu Lys Glu Phe Trp Gln Leu Val Asp Ala
 1 5 10 15

Tyr Gly Asp Arg Met Val
 20

30

<210> 468

<211> 22

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

35

<220>

<223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

40

<400> 468

Asn Asp Arg Ala Gln Leu Leu Arg Asp Phe Trp Gln Leu Val Asp Gly
 1 5 10 15

Leu Gly Val Lys Ser Trp
 20

<210> 469

<211> 22

<212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 469

Gly Val Arg Glu Thr Leu Leu Tyr Glu Leu Trp Tyr Leu Leu Lys Gly
 1 5 10 15

Leu Gly Ala Asn Gln Gly
 20

10 <210> 470
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 470

Gln Ala Arg Ala Thr Leu Leu Lys Glu Phe Cys Gln Leu Val Gly Cys
 1 5 10 15

Gln Gly Asp Lys Leu Ser
 20

20 <210> 471
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 471

Gln Glu Arg Ala Thr Leu Leu Lys Glu Phe Trp Gln Leu Val Ala Gly
 1 5 10 15

Leu Gly Gln Asn Met Arg
 20

30 <210> 472
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

35 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

40 <400> 472

Ser Gly Arg Ala Thr Leu Leu Lys Glu Phe Trp Gln Leu Val Gln Gly
 1 5 10 15

Leu Gly Glu Tyr Arg Trp
 20

ES 2 399 618 T3

- 5 <210> 473
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
- <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina
- 10 <400> 473
 Thr Met Arg Ala Thr Leu Leu Lys Glu Phe Trp Leu Phe Val Asp Gly
 1 5 10 15
 Gln Arg Glu Met Gln Trp
 20
- 15 <210> 474
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
- 20 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina
- <400> 474
 Gly Glu Arg Ala Thr Leu Leu Asn Asp Phe Trp Gln Leu Val Asp Gly
 1 5 10 15
 Gln Gly Asp Asn Thr Gly
 20
- 25 <210> 475
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
- 30 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina
- <400> 475
 Asp Glu Arg Glu Thr Leu Leu Lys Glu Phe Trp Gln Leu Val His Gly
 1 5 10 15
 Trp Gly Asp Asn Val Ala
 20
- 35 <210> 476
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
- 40 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina
- <400> 476

Gly Gly Arg Ala Thr Leu Leu Lys Glu Leu Trp Gln Leu Leu Glu Gly
 1 5 10 15

Gln Gly Ala Asn Leu Val
 20

5 <210> 477
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 477

Thr Ala Arg Ala Thr Leu Leu Asn Glu Leu Val Gln Leu Val Lys Gly
 1 5 10 15

Tyr Gly Asp Lys Leu Val
 20

15 <210> 478
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 478

Gly Met Arg Ala Thr Leu Leu Gln Glu Phe Trp Gln Leu Val Gly Gly
 1 5 10 15

Gln Gly Asp Asn Trp Met
 20

25 <210> 479
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 479

Ser Thr Arg Ala Thr Leu Leu Asn Asp Leu Trp Gln Leu Met Lys Gly
 1 5 10 15

Trp Ala Glu Asp Arg Gly
 20

35 <210> 480
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40 <220>

ES 2 399 618 T3

<223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 480

Ser Glu Arg Ala Thr Leu Leu Lys Glu Leu Trp Gln Leu Val Gly Gly
 1 5 10 15

Trp Gly Asp Asn Phe Gly
 20

5

<210> 481

<211> 22

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

10

<220>

<223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 481

Val Gly Arg Ala Thr Leu Leu Lys Glu Phe Trp Gln Leu Val Glu Gly
 1 5 10 15

Leu Val Gly Gln Ser Arg
 20

15

<210> 482

<211> 22

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20

<220>

<223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

25

<400> 482

Glu Ile Arg Ala Thr Leu Leu Lys Glu Phe Trp Gln Leu Val Asp Glu
 1 5 10 15

Trp Arg Glu Gln Pro Asn
 20

30

<210> 483

<211> 22

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

35

<400> 483

Gln Leu Arg Ala Thr Leu Leu Lys Glu Phe Leu Gln Leu Val His Gly
 1 5 10 15

Leu Gly Glu Thr Asp Ser
 20

40

<210> 484

<211> 22

<212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 484
 Thr Gln Arg Ala Thr Leu Leu Lys Glu Phe Trp Gln Leu Ile Glu Gly
 1 5 10 15

Leu Gly Gly Lys His Val
 20

10 <210> 485
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 485
 His Tyr Arg Ala Thr Leu Leu Lys Glu Phe Trp Gln Leu Val Asp Gly
 1 5 10 15

Leu Arg Glu Gln Gly Val
 20

20 <210> 486
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 486
 Gln Ser Arg Val Thr Leu Leu Arg Glu Phe Trp Gln Leu Val Glu Ser
 1 5 10 15

Tyr Arg Pro Ile Val Asn
 20

30 <210> 487
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

35 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

40 <400> 487

Leu Ser Arg Ala Thr Leu Leu Asn Glu Phe Trp Gln Phe Val Asp Gly
 1 5 10 15

Gln Arg Asp Lys Arg Met
 20

5 <210> 488
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 488
 Trp Asp Arg Ala Thr Leu Leu Asn Asp Phe Trp His Leu Met Glu Glu
 1 5 10 15

Leu Ser Gln Lys Pro Gly
 20

15 <210> 489
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 489
 Gln Glu Arg Ala Thr Leu Leu Lys Glu Phe Trp Arg Met Val Glu Gly
 1 5 10 15

Leu Gly Lys Asn Arg Gly
 20

25 <210> 490
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 490
 Asn Glu Arg Ala Thr Leu Leu Arg Glu Phe Trp Gln Leu Val Gly Gly
 1 5 10 15

Tyr Gly Val Asn Gln Arg
 20

35 <210> 491
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40 <220>

ES 2 399 618 T3

<223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 491

Tyr Arg Glu Met Ser Met Leu Glu Gly Leu Leu Asp Val Leu Glu Arg
1 5 10 15

Leu Gln His Tyr
20

5

<210> 492

<211> 22

<212> PRT

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

15

<400> 492

His Gln Arg Asp Met Ser Met Leu Trp Glu Leu Leu Asp Val Leu Asp
1 5 10 15

Gly Leu Arg Gln Tyr Ser
20

<210> 493

<211> 22

<212> PRT

20 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

25

<400> 493

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

Gln Leu Arg Gln Gln Arg
20

<210> 494

<211> 22

<212> PRT

30 <213> Secuencia artificial

<220>

35 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 494

Thr Ser Arg Asp Met Ser Leu Leu Trp Glu Leu Leu Glu Glu Leu Asp
1 5 10 15

Arg Leu Gly His Gln Arg
20

40

<210> 495

<211> 22

<212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 495
 Met Gln His Asp Met Ser Met Leu Tyr Gly Leu Val Glu Leu Leu Glu
 1 5 10 15

Ser Leu Gly His Gln Ile
 20

10 <210> 496
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 496
 Trp Asn Arg Asp Met Arg Met Leu Glu Ser Leu Phe Glu Val Leu Asp
 1 5 10 15

Gly Leu Arg Gln Gln Val
 20

20 <210> 497
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 497
 Gly Tyr Arg Asp Met Ser Met Leu Glu Gly Leu Leu Ala Val Leu As
 1 5 10 15

30 Arg Leu Gly Pro Gln Leu .

<210> 498
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

35 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

40 <400> 498
 Thr Gln Arg Asp Met Ser Met Leu Glu Gly Leu Leu Glu Val Leu Asp
 1 5 10 15

Arg Leu Gly Gln Gln Arg
 20

<210> 499

<211> 22
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 499
 Trp Tyr Arg Asp Met Ser Met Leu Glu Gly Leu Leu Glu Val Leu Asp
 1 5 10 15

Arg Leu Gly Gln Gln Arg
 20

10 <210> 500
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 500
 His Asn Ser Ser Gln Met Leu Leu Ser Glu Leu Ile Met Leu Val Gly
 1 5 10 15

Ser Met Met Gln
 20

25 <210> 501
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

30 <400> 501
 Thr Gln Asn Ser Arg Gln Met Leu Leu Ser Asp Phe Met Met Leu Val
 1 5 10 15

Gly Ser Met Ile Gln Gly
 20

35 <210> 502
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

40 <400> 502

Met Gln Thr Ser Arg His Ile Leu Leu Ser Glu Phe Met Met Leu Val
 1 5 10 15

Gly Ser Ile Met His Gly
 20

5 <210> 503
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 503
 His Asp Asn Ser Arg Gln Met Leu Leu Ser Asp Leu Leu His Leu Val
 1 5 10 15

Gly Thr Met Ile Gln Gly
 20

15 <210> 504
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 504
 Met Glu Asn Ser Arg Gln Asn Leu Leu Arg Glu Leu Ile Met Leu Val
 1 5 10 15

Gly Asn Met Ser His Gln
 20

25 <210> 505
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 505
 Gln Asp Thr Ser Arg His Met Leu Leu Arg Glu Phe Met Met Leu Val
 1 5 10 15

Gly Glu Met Ile Gln Gly
 20

35 <210> 506
 <211> 22
 <212> PRT
 40 <213> Secuencia artificial

ES 2 399 618 T3

<220>

<223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 506

Asp Gln Asn Ser Arg Gln Met Leu Leu Ser Asp Leu Met Ile Leu Val
 1 5 10 15

Gly Ser Met Ile Gln Gly
 20

5

<210> 507

<211> 20

<212> PRT

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

15 <400> 507

Glu Phe Phe His Trp Leu His Asn His Arg Ser Glu Val Asn His Trp
 1 5 10 15

Leu Asp Met Asn
 20

<210> 508

<211> 22

20 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

25

<400> 508

Asn Val Phe Phe Gln Trp Val Gln Lys His Gly Arg Val Val Tyr Gln
 1 5 10 15

Trp Leu Asp Ile Asn Val
 20

<210> 509

30 <211> 22

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

35 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina

<400> 509

Phe Asp Phe Leu Gln Trp Leu Gln Asn His Arg Ser Glu Val Glu His
 1 5 10 15

Trp Leu Val Met Asp Val
 20

40 <210> 510

<211> 14

<212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 5 <223> Secuencia de péptido de unión a BAFF

 <400> 510
Pro Gly Thr Cys Phe Pro Phe Pro Trp Glu Cys Thr His Ala
1 5 10

10 <210> 511
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a BAFF

 <400> 511
Trp Gly Ala Cys Trp Pro Phe Pro Trp Glu Cys Phe Lys Glu
1 5 10

20 <210> 512
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a BAFF

 <400> 512
Val Pro Phe Cys Asp Leu Leu Thr Lys His Cys Phe Glu Ala
1 5 10

30 <210> 513
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

35 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a BAFF

 <400> 513
Gly Ser Arg Cys Lys Tyr Lys Trp Asp Val Leu Thr Lys Gln Cys Phe
1 5 10 15

His His

45 <210> 514
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

50 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a BAFF

 <400> 514

Leu Pro Gly Cys Lys Trp Asp Leu Leu Ile Lys Gln Trp Val Cys Asp
 1 5 10 15

Pro Leu

5 <210> 515
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a BAFF

<400> 515
 Ser Ala Asp Cys Tyr Phe Asp Ile Leu Thr Lys Ser Asp Val Cys Thr
 1 5 10 15

Ser Ser

15 <210> 516
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a BAFF

<400> 516
 Ser Asp Asp Cys Met Tyr Asp Gln Leu Thr Arg Met Phe Ile Cys Ser
 1 5 10 15

Asn Leu

25 <210> 517
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a BAFF

<400> 517
 Asp Leu Asn Cys Lys Tyr Asp Glu Leu Thr Tyr Lys Glu Trp Cys Gln
 1 5 10 15

Phe Asn

35 <210> 518
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a BAFF

<400> 518

Phe His Asp Cys Lys Tyr Asp Leu Leu Thr Arg Gln Met Val Cys His
 1 5 10 15

Gly Leu

5 <210> 519
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a BAFF

<400> 519
 Arg Asn His Cys Phe Trp Asp His Leu Leu Lys Gln Asp Ile Cys Pro
 1 5 10 15

Ser Pro

15 <210> 520
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a BAFF

<400> 520
 Ala Asn Gln Cys Trp Trp Asp Ser Leu Thr Lys Lys Asn Val Cys Glu
 1 5 10 15

Phe Phe

25 <210> 521
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a BAFF

<400> 521
 Tyr Lys Gly Arg Gln Gln Met Trp Asp Ile Leu Thr Arg Ser Trp Val
 1 5 10 15

Val Ser Leu

35 <210> 522
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a BAFF

45 <400> 522

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

Pro Asn Ile

5 <210> 523
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a BAFF

<400> 523
 Gln Gln Asn Ala Gln Arg Val Trp Asp Leu Leu Ile Arg Thr Trp Val
 1 5 10 15

Tyr Pro Gln

15 <210> 524
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a BAFF

<400> 524
 Gly Trp Asn Glu Ala Trp Trp Asp Glu Leu Thr Lys Ile Trp Val Leu
 1 5 10 15

Glu Gln Gln

25 <210> 525
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a BAFF

<400> 525
 Arg Ile Thr Cys Asp Thr Trp Asp Ser Leu Ile Lys Lys Cys Val Pro
 1 5 10 15

Gln Gln Ser

35 <210> 526
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a BAFF

<400> 526

Gly Ala Ile Met Gln Gln Phe Trp Asp Ser Leu Thr Lys Thr Trp Leu
 1 5 10 15

Arg Gln Ser

5 <210> 527
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a BAFF

<400> 527
 Trp Leu His Ser Gly Trp Trp Asp Pro Leu Thr Lys His Trp Leu Gln
 1 5 10 15

Gln Lys Val

15 <210> 528
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a BAFF

<400> 528
 Ser Glu Trp Phe Phe Trp Phe Asp Pro Leu Thr Arg Ala Gln Gln Leu
 1 5 10 15

Lys Phe Arg

25 <210> 529
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a BAFF

<400> 529
 Gly Val Trp Phe Trp Trp Phe Asp Pro Leu Thr Lys Gln Trp Thr Gln
 1 5 10 15

Gln Ala Gly

35 <210> 530
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a BAFF

<400> 530

Met Gln Gln Cys Lys Gly Tyr Tyr Asp Ile Leu Thr Lys Trp Cys Val
 1 5 10 15

Thr Asn Gly

5 <210> 531
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a BAFF

<400> 531

Leu Trp Ser Lys Glu Val Trp Asp Ile Leu Thr Lys Ser Trp Val Ser
 1 5 10 15

Gln Gln Ala

15 <210> 532
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a BAFF

<400> 532

Lys Ala Ala Gly Trp Trp Phe Asp Trp Leu Thr Lys Val Trp Val Pro
 1 5 10 15

Ala Pro

25 <210> 533
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a BAFF

<400> 533

Ala Tyr Gln Gln Thr Trp Phe Trp Asp Ser Leu Thr Arg Leu Trp Leu
 1 5 10 15

Ser Thr Thr

35 <210> 534
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a BAFF

<400> 534

Ser Gly Gln Gln His Phe Trp Trp Asp Leu Leu Thr Arg Ser Trp Thr
 1 5 10 15

Pro Ser Thr

5 <210> 535
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a BAFF

<400> 535
 Leu Gly Val Gly Gln Gln Lys Trp Asp Pro Leu Thr Lys Gln Trp Val
 1 5 10 15

Ser Arg Gly

15 <210> 536
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a BAFF

<400> 536
 Val Gly Lys Met Cys Gln Gln Trp Asp Pro Leu Ile Lys Arg Thr Val
 1 5 10 15

Cys Val Gly

25 <210> 537
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a BAFF

<400> 537
 Cys Arg Gln Gly Ala Lys Phe Asp Leu Leu Thr Lys Gln Cys Leu Leu
 1 5 10 15

Gly Arg

35 <210> 538
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a BAFF

<400> 538

Gly Gln Ala Ile Arg His Trp Asp Val Leu Thr Lys Gln Trp Val Asp
 1 5 10 15

Ser Gln Gln

5 <210> 539
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a BAFF

<400> 539
 Arg Gly Pro Cys Gly Ser Trp Asp Leu Leu Thr Lys His Cys Leu Asp
 1 5 10 15

Ser Gln Gln

15 <210> 540
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a BAFF

<400> 540
 Trp Gln Trp Lys Gln Gln Gln Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Met Val
 1 5 10 15

Trp Val Gly

25 <210> 541
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a BAFF

<400> 541
 Pro Ile Thr Ile Cys Arg Lys Asp Leu Leu Thr Lys Gln Val Val Cys
 1 5 10 15

Leu Asp

35 <210> 542
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a BAFF

<400> 542

Lys Thr Cys Asn Gly Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Cys Leu Gln
 1 5 10 15

Gln Gln Ala

5 <210> 543
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a BAFF

<400> 543
 Lys Cys Leu Lys Gly Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Cys Val Thr
 1 5 10 15

Glu Val

15 <210> 544
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a BAFF

<400> 544
 Arg Cys Trp Asn Gly Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Cys Ile His
 1 5 10 15

Pro Trp

25 <210> 545
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a BAFF

<400> 545
 Asn Arg Asp Met Arg Lys Trp Asp Pro Leu Ile Lys Gln Trp Ile Val
 1 5 10 15

35 Arg Pro

40 <210> 546
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a BAFF

45 <400> 546

Gln Gln Ala Ala Ala Ala Thr Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Leu
 1 5 10 15

Val Pro Pro

5 <210> 547
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a BAFF

<400> 547
 Pro Glu Gly Gly Pro Lys Trp Asp Pro Leu Thr Lys Gln Gln Phe Leu
 1 5 10 15

Pro Pro Val

15 <210> 548
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a BAFF

<400> 548
 Gln Gln Thr Pro Gln Gln Lys Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp
 1 5 10 15

Phe Thr Arg Asn
 20

25 <210> 549
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a BAFF

<400> 549
 Ile Gly Ser Pro Cys Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Met Ile Cys
 1 5 10 15

Gln Gln Thr

35 <210> 550
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a BAFF

<400> 550

Cys Thr Ala Ala Gly Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Cys Ile Gln
 1 5 10 15

Gln Glu Lys

5 <210> 551
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a BAFF

<400> 551

Val Ser Gln Cys Met Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Cys Leu Gln
 1 5 10 15

Gln Gly Trp

15 <210> 552
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a BAFF

<400> 552

Val Trp Gly Thr Trp Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Tyr Leu Pro
 1 5 10 15

Pro Gln Gln

25 <210> 553
 <211> 19
 <212> PRT
 30 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a BAFF

35 <400> 553

Gly Trp Trp Glu Met Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Tyr Arg
 1 5 10 15

Pro Gln Gln

40 <210> 554
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a BAFF

45 <400> 554

Thr Ala Gln Gln Val Ser Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Leu
 1 5 10 15

Pro Leu Ala

5 <210> 555
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a BAFF

<400> 555
 Gln Leu Trp Gly Thr Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Tyr Ile Gln
 1 5 10 15

Gln Ile Met

15 <210> 556
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a BAFF

<400> 556
 Trp Ala Thr Ser Gln Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Val Gln
 1 5 10 15

Gln Asn Met

25 <210> 557
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a BAFF

<400> 557
 Gln Gln Arg Gln Cys Ala Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Cys Val
 1 5 10 15

Leu Phe Tyr

35 <210> 558
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a BAFF

<400> 558

Lys Thr Thr Asp Cys Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Arg Ile Cys
 1 5 10 15

Gln Gln Val

5 <210> 559
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a BAFF

<400> 559

Leu Leu Cys Gln Gln Gly Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Cys Leu
 1 5 10 15

Lys Leu Arg

15 <210> 560
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a BAFF

<400> 560

Leu Met Trp Phe Trp Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Leu Val Pro
 1 5 10 15

Thr Phe

25 <210> 561
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a BAFF

<400> 561

Gln Gln Thr Trp Ala Trp Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Ile
 1 5 10 15

Gly Pro Met

35 <210> 562
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a BAFF

<400> 562

Asn Lys Glu Leu Leu Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Cys Arg Gly
 1 5 10 15

Arg Ser

5 <210> 563
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a BAFF

<400> 563

Gly Gln Gln Lys Asp Leu Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Tyr Val
 1 5 10 15

Arg Gln Ser

15 <210> 564
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a BAFF

<400> 564

Pro Lys Pro Cys Gln Gln Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Cys Leu
 1 5 10 15

Gly Ser Val

25 <210> 565
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a BAFF

<400> 565

Gly Gln Ile Gly Trp Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Ile Gln
 1 5 10 15

35 Gln Thr Arg

<210> 566
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a BAFF

<400> 566

Val Trp Leu Asp Trp Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Ile His
 1 5 10 15

Pro Gln Gln

5 <210> 567
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a BAFF

<400> 567

Gln Gln Glu Trp Glu Tyr Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Gly
 1 5 10 15

Trp Leu Arg

15 <210> 568
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a BAFF

<400> 568

His Trp Asp Ser Trp Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Val Val
 1 5 10 15

Gln Gln Ala

25 <210> 569
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a BAFF

<400> 569

Thr Arg Pro Leu Gln Gln Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Leu
 1 5 10 15

35 Arg Val Gly

40 <210> 570
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a BAFF

<400> 570

Ser Asp Gln Trp Gln Gln Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Phe
 1 5 10 15

Trp Asp Val

5 <210> 571
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a BAFF

<400> 571

Gln Gln Gln Thr Phe Met Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Ile
 1 5 10 15

Arg Arg His

15 <210> 572
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a BAFF

<400> 572

Gln Gln Gly Glu Cys Arg Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Cys Phe
 1 5 10 15

Pro Gly Gln

25 <210> 573
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a BAFF

<400> 573

Gly Gln Gln Met Gly Trp Arg Trp Asp Pro Leu Ile Lys Met Cys Leu
 1 5 10 15

Gly Pro Ser

35 <210> 574
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a BAFF

<400> 574

Gln Gln Leu Asp Gly Cys Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Lys Val
 1 5 10 15

Cys Ile Pro

5 <210> 575
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a BAFF

<400> 575

His Gly Tyr Trp Gln Gln Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Val
 1 5 10 15

Ser Ser Glu

15 <210> 576
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a BAFF

<400> 576

His Gln Gln Gly Gln Cys Gly Trp Asp Leu Leu Thr Arg Ile Tyr Leu
 1 5 10 15

Pro Cys His

25 <210> 577
 <211> 19
 <212> PRT
 30 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a BAFF

35 <400> 577

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

Met Gln Gln

40 <210> 578
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia de péptido de unión a BAFF

<400> 578

Gly Pro Pro Gly Ser Val Trp Asp Leu Leu Thr Lys Ile Trp Ile Gln
 1 5 10 15

Gln Thr Gly

5

<210> 579

<211> 19

<212> PRT

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia de péptido de unión a BAFF

15 <400> 579

Ile Thr Gln Gln Asp Trp Arg Phe Asp Thr Leu Thr Arg Leu Trp Leu
 1 5 10 15

Pro Leu Arg

<210> 580

<211> 19

<212> PRT

20 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia de péptido de unión a BAFF

25

<400> 580

Gln Gln Gly Gly Phe Ala Ala Trp Asp Val Leu Thr Lys Met Trp Ile
 1 5 10 15

Thr Val Pro

<210> 581

<211> 18

<212> PRT

30 <213> Secuencia artificial

<220>

35 <223> Secuencia de péptido de unión a BAFF

<400> 581

Gly His Gly Thr Pro Trp Trp Asp Ala Leu Thr Arg Ile Trp Ile Leu
 1 5 10 15

Gly Val

40 <210> 582

<211> 19

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia de péptido de unión a BAFF

<400> 582

Val Trp Pro Trp Gln Gln Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Phe Val
 1 5 10 15

Phe Gln Asp

5

<210> 583

<211> 19

<212> PRT

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia de péptido de unión a BAFF

15 <400> 583

Trp Gln Gln Trp Ser Trp Lys Trp Asp Leu Leu Thr Arg Gln Tyr Ile
 1 5 10 15

Ser Ser Ser

<210> 584

<211> 19

<212> PRT

20 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia de péptido de unión a BAFF

25

<400> 584

Asn Gln Gln Thr Leu Trp Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Phe Ile
 1 5 10 15

Thr Tyr Met

30 <210> 585

<211> 19

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

35 <220>

<223> Secuencia de péptido de unión a BAFF

<400> 585

Pro Val Tyr Gln Gln Gly Trp Trp Asp Thr Leu Thr Lys Leu Tyr Ile
 1 5 10 15

Trp Asp Gly

40

<210> 586

<211> 19

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

45

<220>

<223> Secuencia de péptido de unión a BAFF

<400> 586

Trp Leu Asp Gly Gly Trp Arg Asp Pro Leu Ile Lys Arg Ser Val Gln
 1 5 10 15

Gln Leu Gly

5 <210> 587
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a BAFF

<400> 587

Gly His Gln Gln Gln Phe Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Val
 1 5 10 15

Gln Ser Asn

15 <210> 588
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a BAFF

<400> 588

Gln Gln Arg Val Gly Gln Phe Trp Asp Val Leu Thr Lys Met Phe Ile
 1 5 10 15

Thr Gly Ser

25 <210> 589
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a BAFF

35 <400> 589

Gln Gln Ala Gln Gly Trp Ser Tyr Asp Ala Leu Ile Lys Thr Trp Ile
 1 5 10 15

Arg Trp Pro

40 <210> 590
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a BAFF

<400> 590

Gly Trp Met His Trp Lys Trp Asp Pro Leu Thr Lys Gln Gln Ala Leu
 1 5 10 15

Pro Trp Met

5 <210> 591
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a BAFF

<400> 591

Gly His Pro Thr Tyr Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Ile Leu
 1 5 10 15

Gln Gln Met

15 <210> 592
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a BAFF

<400> 592

Trp Asn Asn Trp Ser Leu Trp Asp Pro Leu Thr Lys Leu Trp Leu Gln
 1 5 10 15

Gln Gln Asn

25 <210> 593
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a BAFF

35 <400> 593

Trp Gln Trp Gly Trp Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Val Gln
 1 5 10 15

Gln Gln

40 <210> 594
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a BAFF

<400> 594

Gly Gln Met Gly Trp Arg Trp Asp Pro Leu Thr Lys Met Trp Leu Gly
 1 5 10 15

Thr Ser

5 <210> 595
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Ligador

<400> 595

Gly Gly Gly Lys Gly Gly Gly Gly
 1 5

15 <210> 596
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Ligador

<400> 596

Gly Gly Gly Asn Gly Ser Gly Gly
 1 5

25 <210> 597
 <211> 8
 <212> PRT
 30 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Ligador

35 <400> 597

Gly Gly Gly Cys Gly Gly Gly Gly
 1 5

40 <210> 598
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Ligador

45 <400> 598

Gly Pro Asn Gly Gly
 1 5

ES 2 399 618 T3

<210> 599
<211> 228
<212> PRT
<213> *Homo Sapiens*

5

<400> 599

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

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

ES 2 399 618 T3

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Pro Gly Lys
 225

<210> 600
 <211> 227
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 600

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

 Pro Gly Lys
 225

<210> 601
 <211> 2

5

<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 601
Pro Pro
1

5

<210> 602
<211> 8
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

10

<400> 602
Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
1 5

15

<210> 603
<211> 232
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

20

<400> 603

ES 2 399 618 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

<211> 4
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

5 <400> 604
 Val His Asn Ala
 1

10 <210> 605
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 605
 Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
 1 5

15 <210> 606
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

20 <400> 606
 Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
 1 5 10

25 <210> 607
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 607
 Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
 1 5 10 15

30 Gly Gln Pro Arg Glu Pro
 20

35 <210> 608
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 608
 Asp Glu Leu Thr Lys
 1 5

40 <210> 609
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

45 <400> 609
 Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 1 5

<210> 610

<211> 11
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

5 <400> 610
 Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
 1 5 10

10 <210> 611
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 611
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 1 5

15 <210> 612
 <211> 246
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Secuencia de péptido de unión a Ang-2

<400> 612
 Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
 1 5 10 15

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

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

ES 2 399 618 T3

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

<210> 613
 <211> 252
 5 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Secuencia de péptido o polipéptido de unión a miostatina
 10 400> 613

<210> 614
<211> 252
<212> PRT
5 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Polipéptido mimético de EPO

10 <400>
614

ES 2 399 618 T3

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
210 215 220

ES 2 399 618 T3

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
210 215 220

ES 2 399 618 T3

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
 225 230 235 240

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 245 250

<210> 615
 <211> 246
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Secuencia de péptido de mimético de TPO

<400> 615

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Pro Thr Leu Arg Gln Trp Leu Ala Ala Arg Ala Gly Gly Thr Lys Asn
 145 150 155 160

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

ES 2 399 618 T3

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
 180 185 190

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

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

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

Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 245

<210> 616

<211> 14

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia de péptido de unión a miostatina

10 <400> 616

Lys Asp Lys Cys Lys Met Trp His Trp Met Cys Lys Pro Pro
 1 5 10

<210> 617

<211> 279

15 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia de Stnf-r2

20 <400> 617

Gln Ile Cys Asn Val Val Ala Ile Pro Gly Asn Ala Ser Met Asp Ala
 1 5 10 15

Val Cys Thr Ser Thr Ser Pro Thr Arg Ser Met Ala Pro Gly Ala Val
 20 25 30

His Leu Pro Gln Pro Val Ser Thr Arg Ser Gln His Thr Gln Pro Thr
 35 40 45

Pro Glu Pro Ser Thr Ala Pro Ser Thr Ser Phe Leu Leu Pro Met Gly
 50 55 60

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

ES 2 399 618 T3

Gly Leu Ile Val Gly Val Thr Ala Leu Gly Leu Leu Ile Ile Gly Val
85 90 95

Val Asn Cys Val Ile Met Thr Gln Val Lys Lys Lys Pro Leu Cys Leu
100 105 110

Gln Arg Glu Ala Lys Val Pro His Leu Pro Ala Asp Lys Ala Arg Gly
115 120 125

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

Ser Ser Ser Ser Leu Glu Ser Ser Ala Ser Ala Leu Asp Arg Arg Ala
145 150 155 160

Pro Thr Arg Asn Gln Pro Gln Ala Pro Gly Val Glu Ala Ser Gly Ala
165 170 175

Gly Glu Ala Arg Ala Ser Thr Gly Ser Ser Asp Ser Ser Pro Gly Gly
180 185 190

His Gly Thr Gln Val Asn Val Thr Cys Ile Val Asn Val Cys Ser Ser
195 200 205

Ser Asp His Ser Ser Gln Cys Ser Ser Gln Ala Ser Ser Thr Met Gly
210 215 220

Asp Thr Asp Ser Ser Pro Ser Glu Ser Pro Lys Asp Glu Gln Val Pro
225 230 235 240

Phe Ser Lys Glu Glu Cys Ala Phe Arg Ser Gln Leu Glu Thr Pro Glu
245 250 255

Thr Leu Leu Gly Ser Thr Glu Glu Lys Pro Leu Pro Leu Gly Val Pro
260 265 270

Asp Ala Gly Met Lys Pro Ser
275

<210> 618
<211> 467
5 <212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
10 <223> Fusión etanercept-dominio Fc

ES 2 399 618 T3

<400> 618

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

ES 2 399 618 T3

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

ES 2 399 618 T3

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
 275 280 285

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
 290 295 300

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
 305 310 315 320

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
 325 330 335

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
 340 345 350

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 355 360 365

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
 370 375 380

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
 385 390 395 400

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 405 410 415

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
 420 425 430

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 435 440 445

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 450 455 460

Pro Gly Lys
 465

<210> 619
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Secuencia de ligador

5

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1) .. (2)
 5 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido que se produce de manera natural

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (4) .. (5)
 10 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido que se produce de manera natural

<400> 619
 Xaa Xaa Asn Xaa Xaa Gly
 1 5

15 <210> 619
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Secuencia de ligador L5

<400> 620
 Gly Gly Gly Gly Ser
 1 5

25 <210> 621
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Secuencia de ligador L10

<400> 621
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 1 5 10

35 <210> 622
 <211> 25
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Secuencia de ligador L25

45 <400> 622
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
 1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 20 25

50 <210> 623
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia de ligador peptídico

<400> 623

Gly Gly Glu Gly Gly Gly
1 5

5

<210> 624

<211> 8

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

10

<220>

<223> Secuencia de ligador peptídico

<400> 624

Gly Gly Glu Glu Glu Gly Gly Gly
1 5

15

<210> 625

<211> 5

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20

<220>

<223> Secuencia de ligador peptídico

25

<400> 625

Gly Glu Glu Glu Gly
1 5

<210> 626

<211> 4

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

30

<220>

<223> Secuencia de ligador peptídico

35

<400> 626

Gly Glu Glu Glu
1

<210> 627

<211> 6

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

40

<220>

<223> Secuencia de ligador peptídico

45

<400> 627

Gly Gly Asp Gly Gly Gly
1 5

50

<210> 628

<211> 7

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

55

<220>

<223> Secuencia de ligador peptídico

- <400> 628
Gly Gly Asp Asp Asp Gly Gly
1 5
- 5 <210> 629
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
- 10 <220>
 <223> Secuencia de ligador peptídico
- <400> 629
Gly Asp Asp Asp Gly
1 5
- 15 <210> 630
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
- 20 <220>
 <223> Secuencia de ligador peptídico
- <400> 630
Gly Asp Asp Asp
1
- 25 <210> 631
 <211> 21
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
- 30 <220>
 <223> Secuencia de ligador peptídico
- 35 <400> 631
Gly Gly Gly Gly Ser Asp Asp Ser Asp Glu Gly Ser Asp Gly Glu Asp
1 5 10 15
- Gly Gly Gly Gly Ser**
20
- 40 <210> 632
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
- <220>
 <223> Secuencia de ligador peptídico
- 45 <400> 632
Trp Glu Trp Glu Trp
1 5
- 50 <210> 633
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<210>
<223> Secuencia de ligador peptídico

5 <400> 633
Phe Glu Phe Glu Phe
1 5

<210> 634
<211> 6
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Secuencia de ligador peptídico

15 <400> 634
Glu Glu Glu Trp Trp Trp
1 5

20 <210> 635
<211> 6
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

25 <220>
<223> Secuencia de ligador peptídico

<400> 635
Glu Glu Glu Phe Phe Phe
1 5

30 <210> 636
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

35 <220>
<223> Secuencia de ligador peptídico

<400> 636
Trp Trp Glu Glu Glu Trp Trp
1 5

40 <210> 637
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45 <220>
<223> Secuencia de ligador peptídico

<400> 637
Phe Phe Glu Glu Glu Phe Phe
1 5

50 <210> 638
<211> 6
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

55

<220>
 <223> Secuencia de ligador peptídico

5 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1) .. (2)
 <223> Xaa son cada uno independientemente cualquier aminoácido

10 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (4) .. (5)
 <223> Xaa son cada uno independientemente cualquier aminoácido

<400> 638
 Xaa Xaa Tyr Xaa Xaa Gly
 1 5

15 <210> 639
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Secuencia de ligador peptídico

25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1) .. (2)
 <223> Xaa son cada uno independientemente cualquier aminoácido

30 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (4) .. (5)
 <223> Xaa son cada uno independientemente cualquier aminoácido

35 <400> 639
 Xaa Xaa Ser Xaa Xaa Gly
 1 5

40 <210> 640
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

45 <220>
 <223> Secuencia de ligador peptídico

50 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1) .. (2)
 <223> Xaa son cada uno independientemente cualquier aminoácido

55 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (4) .. (5)
 <223> Xaa son cada uno independientemente cualquier aminoácido

<400> 640
 Xaa Xaa Thr Xaa Xaa Gly
 1 . 5

60 <210> 641
 <211> 39

ES 2 399 618 T3

	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
5	<220> <223> Secuencia de cebador (3430-37)	
	<400> 641 gaggaataac atatggacaa aactcacaca tgtccacct	39
10	<210> 642 <211> 27 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
15	<220> <223> Secuencia de cebador (4220-28)	
20	<400> 642 ggtcaggctg acgcagttct tggtcag	27
25	<210> 643 <211> 27 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
30	<220> <223> Secuencia de cebador (4220-27)	
35	<400> 643 ctgaccaaga actgqctcag cctgacc	27
40	<210> 644 <211> 43 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
45	<220> <223> Secuencia de cebador (3421-87)	
50	<400> 644 ccgcggcgtc tcgagattat ttaccggag acagggagag gct	43
55	<210> 645 <211> 688 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
	<220> <223> Secuencia de la cepa 13300	
	<220> <221> CDS <222> (1) .. (687)	
55	<400> 645	

ES 2 399 618 T3

atg gac aaa act cac aca tgt cca cct tgc cca gca cct gaa ctc ctg	48
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu	
1 5 10 15	
ggg gga ccg tca gtt ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc ctc	96
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu	
20 25 30	
atg atc tcc cgg acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac gtg agc	144
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser	
35 40 45	
cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag	192
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu	
50 55 60	
gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgg gag gag cag tac aac agc acg	240
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr	
65 70 75 80	
tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg aat	288
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn	
85 90 95	
ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc cca gcc ccc	336
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro	
100 105 110	
atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa cca cag	384
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln	
115 120 125	
gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgg gat gag ctg acc aag aac tgc gtc	432
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Cys Val	
130 135 140	
agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc gtg	480
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val	
145 150 155 160	
gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc acg cct	528
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro	
165 170 175	
ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag ctc acc	576
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr	
180 185 190	
gtg gac aag agc agg tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc gtg	624
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val	
195 200 205	
atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc ctg	672
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu	
210 215 220	
tct ccg ggt aaa taa t	688
Ser Pro Gly Lys	
225	

5
 <210> 646
 <211> 228
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>

ES 2 399 618 T3

<223> Constructo sintético

<400> 646

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

ES 2 399 618 T3

	115		120		125											
Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Cys	Val	
	130					135					140					
Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	
145					150					155					160	
Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	
				165					170					175		
Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	
			180					185					190			
Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	
		195					200					205				
Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	
	210					215					220					
Ser	Pro	Gly	Lys													
	225															

- 5 <210> 647
- <211> 27
- <212> ADN
- <213> Secuencia artificial

- 10 <220>
- <223> Secuencia de cebador (4220-26)
- <400> 647
- ctggttcttg gtgcactcat cccggga 27

- 15 <210> 648
- <211> 27
- <212> ADN
- <213> Secuencia artificial

- 20 <220>
- <223> Secuencia de cebador (4220-26)
- <400> 648
- tcccgggatg agtgcaccaa gaaccag 27

- 25 <210> 649
- <211> 688
- <212> ADN
- <213> Secuencia artificial

- 30 <220>
- <223> Secuencia de la cepa 13322
- <220>

ES 2 399 618 T3

<221> CDS

<222> (1) .. (687)

<400> 649

atg gac aaa act cac aca tgt cca cct tgc cca gca cct gaa ctc ctg	48
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu	
1 5 10 15	
ggg gga ccg tca gtt ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc ctc	96
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu	
20 25 30	
atg atc tcc ccg acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac gtg agc	144
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser	
35 40 45	
cac gaa gac cct gag gtc aag ttt aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag	192
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu	
50 55 60	
gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgg gag gag cag tac aac agc acg	240
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr	
65 70 75 80	
tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg aat	288
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn	
85 90 95	
ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc cca gcc ccc	336
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro	
100 105 110	
atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa cca cag	384
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln	
115 120 125	
gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgg gat gag tgc acc aag aac cag gtc	432
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Cys Thr Lys Asn Gln Val	
130 135 140	
agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc gtg	480
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val	
145 150 155 160	
gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc acg cct	528
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro	
165 170 175	
ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag ctc acc	576
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr	
180 185 190	
gtg gac aag agc agg tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc gtg	624
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val	
195 200 205	
atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc ctg	672
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu	
210 215 220	
tct ccg ggt aaa taa t	688
Ser Pro Gly Lys	
225	

5

<210> 650

<211> 228

ES 2 399 618 T3

<212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <220> Constructo sintético

5

<400> 650
 Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
 1 5 10 15
 Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
 20 25 30
 Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
 35 40 45
 His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
 50 55 60
 Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
 65 70 75 80
 Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
 85 90 95
 Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
 100 105 110
 Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
 115 120 125
 Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Cys Thr Lys Asn Gln Val
 130 135 140
 Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
 145 150 155 160
 Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
 165 170 175
 Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
 180 185 190
 Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
 195 200 205

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

Ser Pro Gly Lys
 225

5 <210> 651
 <211> 27
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Secuencia de cebador (4220-30)
 <400> 651
 caggcaggtc aggcagacct gggttctt 27

15 <210> 652
 <211> 27
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Secuencia de cebador (4220-29)
 <400> 652
 aagaaccagg tctgcctgac ctgcctg 27

25 <210> 653
 <211> 688
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Secuencia de la cepa 13323

35 <220>
 <221> CDS
 <222> (1) .. (687)
 <400> 653
 atg gac aaa act cac aca tgt cca cct tgc cca gca cct gaa ctc ctg 48
 Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
 1 5 10 15

ggg gga ccg tca gtt ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc ctc 96
 Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
 20 25 30

atg atc tcc cgg acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac gtg agc 144
 Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
 35 40 45

cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag 192
 His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
 50 55 60

gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgg gag gag cag tac aac agc acg 240
 Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr

ES 2 399 618 T3

65					70					75				80			
tac	cgt	gtg	gtc	agc	gtc	ctc	acc	gtc	ctg	cac	cag	gac	tgg	ctg	aat		288
Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn		
				85					90				95				
ggc	aag	gag	tac	aag	tgc	aag	gtc	tcc	aac	aaa	gcc	ctc	cca	gcc	ccc		336
Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro		
			100					105					110				
atc	gag	aaa	acc	atc	tcc	aaa	gcc	aaa	ggg	cag	ccc	cga	gaa	cca	cag		384
Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln		
		115					120					125					
gtg	tac	acc	ctg	ccc	cca	tcc	cgg	gat	gag	ctg	acc	aag	aac	cag	gtc		432
Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val		
	130					135					140						
tgc	ctg	acc	tgc	ctg	gtc	aaa	ggc	ttc	tat	ccc	agc	gac	atc	gcc	gtg		480
Cys	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val		
	145				150					155					160		
gag	tgg	gag	agc	aat	ggg	cag	ccg	gag	aac	aac	tac	aag	acc	acg	cct		528
Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro		
				165					170					175			
ccc	gtg	ctg	gac	tcc	gac	ggc	tcc	ttc	ttc	ctc	tac	agc	aag	ctc	acc		576
Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr		
			180					185					190				
gtg	gac	aag	agc	agg	tgg	cag	cag	ggg	aac	gtc	ttc	tca	tgc	tcc	gtg		624
Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val		
		195					200					205					
atg	cat	gag	gct	ctg	cac	aac	cac	tac	acg	cag	aag	agc	ctc	tcc	ctg		672
Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu		
	210					215					220						
tct	ccg	ggt	aaa	taa	t												688
Ser	Pro	Gly	Lys														
	225																

<210> 654
 <211> 228
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Constructo sintético

<400> 654

Met	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu		
1				5					10					15			
Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu		
			20					25					30				
Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser		
		35					40						45				

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

Ser Pro Gly Lys
225

<210> 655
 <211> 27
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Secuencia de cebador (4220-32)

<400> 655
 ctgctgccac ctgcacttgt ccacggt

<210> 656

<211> 27
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <223> Secuencia de cebador (4220-31)

<400> 656
 accgtggaca agtgcaggtg gcagcag 27

10 <210> 657
 <211> 688
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223> Secuencia de la cepa 13324

20 <220>
 <221> CDS
 <222> (1) .. (687)

<400> 657

atg gac aaa act cac aca tgt cca cct tgc cca gca cct gaa ctc ctg	48
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu	
1 5 10 15	
ggg gga ccg tca gtt ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc ctc	96
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu	
20 25 30	
atg atc tcc cgg acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac gtg agc	144
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser	
35 40 45	
cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag	192
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu	
50 55 60	
gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgg gag gag cag tac aac agc acg	240
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr	
65 70 75 80	
tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg aat	288
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn	
85 90 95	
ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc cca gcc ccc	336
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro	
100 105 110	
atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa cca cag	384
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln	
115 120 125	
gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgg gat gag ctg acc aag aac cag gtc	432
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val	
130 135 140	
agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc gtg	480
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val	
145 150 155 160	
gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc acg cct	528

ES 2 399 618 T3

Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro		
				165					170					175			
ccc	gtg	ctg	gac	tcc	gac	ggc	tcc	ttc	ttc	ctc	tac	agc	aag	ctc	acc	576	
Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr		
			180					185					190				
gtg	gac	aag	tgc	agg	tgg	cag	cag	ggg	aac	gtc	ttc	tca	tgc	tcc	gtg	624	
Val	Asp	Lys	Cys	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val		
		195					200					205					
atg	cat	gag	gct	ctg	cac	aac	cac	tac	acg	cag	aag	agc	ctc	tcc	ctg	672	
Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu		
	210					215					220						
tct	ccg	ggt	aaa	taa	t											688	
Ser	Pro	Gly	Lys														
225																	

<210> 658
 <211> 228
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> Constructo sintético

10

<400> 658

ES 2 399 618 T3

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

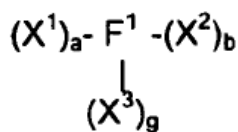
Val Asp Lys Cys Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
195 200 205

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

Ser Pro Gly Lys
225

REIVINDICACIONES

1. Composición de materia, que comprende un dominio Fc monomérico o multimérico que tiene al menos un resto funcional adicional que está covalentemente unido a uno o más sitios de conjugación específicamente seleccionado(s) en el dominio Fc a través de la cadena lateral de un residuo de aminoácido en el/los sitio(s) de conjugación, en donde el residuo de aminoácido en el sitio de conjugación específicamente seleccionado es un residuo de cisteína añadido al dominio Fc mediante sustitución en un sitio de Fc seleccionado del grupo que consiste en Leu139, Gln143, Ser145 y Ser196, en relación con la secuencia de referencia SEQ ID NO: 599, o una combinación de cualquiera de éstos.
2. Composición de materia según la reivindicación 1, en donde el resto funcional adicional es un resto farmacológicamente activo.
3. Composición de materia según la reivindicación 2, en donde el resto farmacológicamente activo es un polipéptido, un péptido o un resto peptidomimético.
4. Composición de materia según la reivindicación 3, en donde el péptido es un péptido de toxina y/o comprende un péptido cíclico.
5. Composición de materia según la reivindicación 2, en donde el resto farmacológicamente activo es un resto orgánico no peptídico.
6. Composición de materia según la reivindicación 1, en donde el resto funcional adicional es un resto marcado que comprende un radioisótopo, una enzima, un resto de biotínulo, un fluoróforo o un cromóforo.
7. Composición de materia según la reivindicación 1, en donde el resto funcional adicional se selecciona del grupo que consiste en un sustrato inmovilizado, un resto que prolonga la semivida, un polímero y polietilenglicol.
8. Composición de materia según la reivindicación 7, en donde el resto que prolonga la semivida es un polietilenglicol, un copolímero de etilenglicol, un polipropilenglicol, un copolímero de propilenglicol, una carboximetilcelulosa, una polivinilpirrolidona, un poli-1,3-dioxolano, un poli-1,3,6-trioxano, un copolímero de etileno/ maleico anhídrido, un poliaminoácido, una dextrano-n-vinilpirrolidona, una poli-n-vinilpirrolidona, un homopolímero de propilenglicol, un polímero de óxido de propileno, un polímero de óxido de etileno, un poliol polioxiethylado, un poli(alcohol vinílico), una cadena glicosilada lineal o ramificada, un poliactal, un ácido graso de cadena larga, un grupo alifático hidrófobo de cadena larga, un dominio Fc de inmunoglobulina, una albúmina, una transtiretina, una globulina de unión a tiroxina, o un ligando que tiene una afinidad por una proteína sérica de semivida larga, seleccionándose dicho ligando del grupo que consiste en ligandos peptídicos y ligandos de molécula pequeña; o una combinación de cualquiera de estos miembros.
9. Composición de materia según la reivindicación 1 de fórmula



en donde:

F¹ es un monómero del dominio Fc monomérico o multimérico;

X¹ está covalentemente unido al extremo N-terminal de F¹ a través del sitio α-amino de F¹;

X² está covalentemente unido al extremo C-terminal de F¹ a través del sitio α-carboxilo de F¹;

X³ está covalentemente unido a uno o más sitios de conjugación específicamente seleccionado(s) en F¹ seleccionado(s) de un residuo de cisteína añadido al dominio Fc mediante sustitución en un sitio de Fc seleccionado del grupo que consiste en Leu139, Gln143, Ser145 y Ser196, en relación con la secuencia de referencia SEQ ID NO: 599, o, si g > 1, cualquier combinación de estos miembros;

X¹, X² y X³ se seleccionan cada uno independientemente de -(L¹)_c-P⁰, -(L¹)_c-P¹, -(L¹)_c-P¹-(L²)_d-P², -(L¹)_c-P¹-(L²)_d-P²-(L³)_e-P³ y -(L¹)_c-P¹-(L²)_d-P²-(L³)_e-P³-(L⁴)_f-P⁴;

P⁰, P¹, P², P³ y P⁴ se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en:

i) un dextrano o polímero farmacéuticamente aceptable;

- ii) un polipéptido, péptido, peptidomimético o resto orgánico no peptídico farmacológicamente activo;
- iii) un radioisótopo, una enzima, un resto de biotililo, un fluoróforo o un cromóforo; y
- iv) un sustrato inmovilizado, siempre que en una cadena que comprenda más de un resto funcional adicional, el sustrato inmovilizado sea el resto más distal de F^1 , y no puede haber más de un sustrato inmovilizado en la cadena;
- 5 L^1, L^2, L^3 y L^4 son cada uno independientemente ligadores;
- a, b, c, d, e y f son cada uno independientemente 0 ó 1; y
- g es 1, 2, 3 ó 4.
- 10 10. Composición de materia según la reivindicación 9, en donde el dominio Fc comprende un dominio Fc de IgG.
11. Composición de materia según la reivindicación 1, en donde el dominio Fc comprende un dominio Fc de IgG1.
12. Composición de materia según la reivindicación 11, en donde el dominio Fc de IgG1 comprende SEQ ID NO: 600 o SEQ ID NO: 603.
- 15 13. Composición de materia según la reivindicación 9, en donde $a = 0$ y $b = 1$, o $a = 1$ y $b = 0$, o $a = 1$ y $b = 1$, o $a = 0$ y $b = 0$.
14. Composición de materia según la reivindicación 9, en donde X^3 comprende polietilenglicol (PEG).
15. Composición de materia según la reivindicación 9, en donde X^3 tiene la estructura $-(L^1)_c-P^1$ o $-(L^1)_c-P^1-(L^2)_d-P^2$.
- 20 16. Composición de materia según la reivindicación 9, en donde $g = 1$ ó 2.
17. Composición de materia según la reivindicación 1, que comprende un péptido o polipéptido de unión a angiotensina 2 (ang-2), o un péptido o polipéptido de unión a miostatina, o un péptido o polipéptido mimético de eritropoyetina (mimético de EPO), o un péptido o polipéptido mimético de trombopoyetina (mimético de TPO).
- 25 18. Composición de materia según la reivindicación 9, en donde cualquiera de X^1, X^2 o X^3 comprende un péptido o polipéptido de unión a angiotensina 2 (ang-2), o un péptido o polipéptido de unión a miostatina, o un péptido o polipéptido mimético de eritropoyetina (mimético de EPO), o un péptido o polipéptido mimético de trombopoyetina (mimético de TPO).
- 30 19. Composición de materia según la reivindicación 18, en donde el péptido o polipéptido de unión a ang-2 comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NOS: 100 a 189 y 612, preferiblemente SEQ ID NO: 147.
20. Composición de materia según la reivindicación 18, en donde F^1 comprende un dominio Fc de IgG1.
- 35 21. Composición de materia según la reivindicación 18, en donde el péptido o polipéptido de unión a miostatina comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NOS: 219 a 509, 613 y 616, preferiblemente SEQ ID NO: 365.
22. Composición de materia según la reivindicación 18, en donde el péptido o polipéptido mimético de EPO comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NOS: 1 a 27 y 614, preferiblemente SEQ ID NO: 2.
- 40 23. Composición de materia según la reivindicación 18, en donde el péptido o polipéptido mimético de TPO comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NOS: 28 a 99 y 615, preferiblemente SEQ ID NO: 28.
24. Composición de materia según la reivindicación 1, que comprende un péptido o polipéptido de unión a factor de crecimiento nervioso (NGF) o un péptido o polipéptido de unión a factor de activación de células B (BAFF).
- 45 25. Composición de materia según la reivindicación 9, en donde cualquiera de X^1, X^2 o X^3 comprende un péptido o polipéptido de unión a factor de crecimiento nervioso (NGF) o un péptido o polipéptido de unión a factor de activación de células B (BAFF).
26. Composición de materia según la reivindicación 25, en donde el péptido o polipéptido de unión a NGF

- comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NOS: 190 a 218.
27. Composición de materia según la reivindicación 25, en donde el péptido o polipéptido de unión a BAFF comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NOS: 510 a 594.
- 5 28. Composición farmacéutica, que comprende la composición de materia según la reivindicación 1 y un portador farmacéuticamente aceptable.
29. ADN que codifica para el dominio Fc monomérico o multimérico comprendido por la composición de materia según la reivindicación 1.
30. Vector de expresión que comprende el ADN según la reivindicación 29.
31. Célula huésped que comprende el vector de expresión según la reivindicación 30.
- 10 32. Célula huésped según la reivindicación 31, en donde la célula es una célula bacteriana o de mamífero.
33. Procedimiento para preparar un compuesto farmacológicamente activo, que comprende:
- 15 a) seleccionar al menos un sitio de conjugación interno de una secuencia de dominio Fc, siendo dicho sitio de conjugación un residuo de cisteína añadido al dominio Fc mediante sustitución en un sitio de Fc seleccionado del grupo que consiste en Leu139, Gln143, Ser145 y Ser196, en relación con la secuencia de referencia SEQ ID NO: 599, o una combinación de cualquiera de éstos, siendo dicho sitio de conjugación propenso a la conjugación de un resto funcional adicional mediante una química de conjugación definida a través de la cadena lateral de un residuo de aminoácido en el sitio de conjugación; y
- b) conjugar un resto funcional predeterminado con el sitio de conjugación seleccionado empleando la química de conjugación definida.
- 20 34. Procedimiento según la reivindicación 33, en donde una construcción génica que codifica para la secuencia de dominio Fc se expresa en una célula bacteriana o de mamífero.
35. Composición de materia según la reivindicación 1, en donde:
- 25 (a) la composición de materia es un anticuerpo modificado de modo que comprende al menos un resto funcional adicional X^3 unido covalentemente al dominio Fc del anticuerpo a través de uno o más sitios de conjugación específicamente seleccionado(s) en el dominio Fc seleccionado de un residuo de cisteína añadido al dominio Fc mediante sustitución en un sitio de Fc seleccionado del grupo que consiste en Leu139, Gln143, Ser145 y Ser196, en relación con la secuencia de referencia SEQ ID NO: 599, o, si hay más de un X^3 , cualquier combinación de estos miembros;
- 30 (b) X^3 se selecciona de $-(L^1)_c-P^0$, $-(L^1)_c-P^1$, $-(L^1)_c-P^1-(L^2)_d-P^2$, $-(L^1)_c-P^1-(L^2)_d-P^2-(L^3)_e-P^3$ y $-(L^1)_c-P^1-(L^2)_d-P^2-(L^3)_e-P^3-(L^4)_f-P^4$;
- P^0 , P^1 , P^2 , P^3 y P^4 se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en:
- i) un dextrano o polímero farmacéuticamente aceptable;
- ii) un polipéptido, péptido, peptidomimético o resto orgánico no peptídico farmacológicamente activo;
- iii) un radioisótopo, una enzima, un resto de biotililo, un fluoróforo o un cromóforo; y
- 35 iv) un sustrato inmovilizado, siempre que en una cadena que comprenda más de un resto funcional adicional, el sustrato inmovilizado sea el resto más distal del dominio Fc, y no puede haber más de un sustrato inmovilizado en la cadena;
- L^1 , L^2 , L^3 y L^4 son cada uno independientemente ligadores;
- c, d, e y f son cada uno independientemente 0 ó 1.
- 40 36. Composición de materia según la reivindicación 9, en donde cualquiera de X^1 , X^2 o X^3 comprende un polipéptido que comprende SEQ ID NO: 617.

Figura 1.

Fc humano:

1 DKTHTCPPCP APELLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED
PEVKFNWYVD
61 GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA
PIEKTISKAK
121 GQPREPQVYT LPPSRDELTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESNGQPENN
YKTPPVLD
181 DGSFFLYSKL TVDKSRWQOG NWFSCSVME ALHNHYTQKS LSLSPGK

Fc de IgG1
Fc humano solo

1 MDKTHTCPPC PAPELLGGPS VFLEPPKPKD TLMISRTPEV
TCVVVDVSHE

51 DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL
HQDWLNGKEY

101 KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDELT
KNQVSLTCLV

151 KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTPPVLD SDGSFFLYSK
LTVDKSRWQQ

201 GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK*

Figura 3

Fc de IgG1

Fc humano solo

1 MDKTHTCPPC PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE
 51 DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY
 101 KCKVSNKKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDELT KNQVSLTCLV
 151 KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTPPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ
 201 GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK*

Figura 4

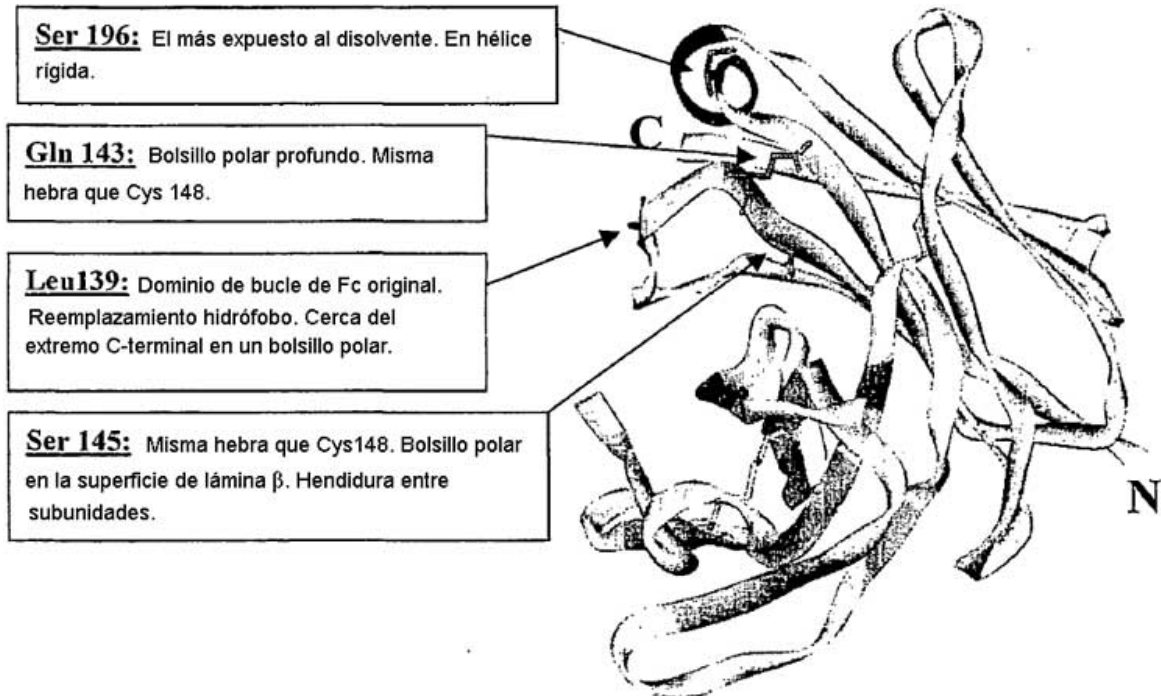


FIGURA 5

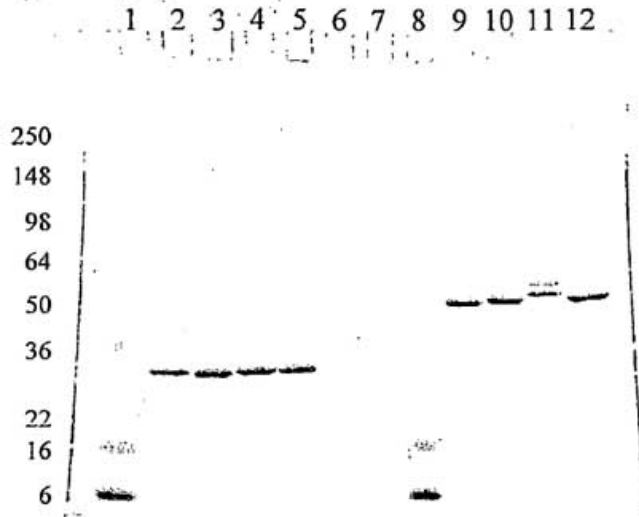


FIGURA 6

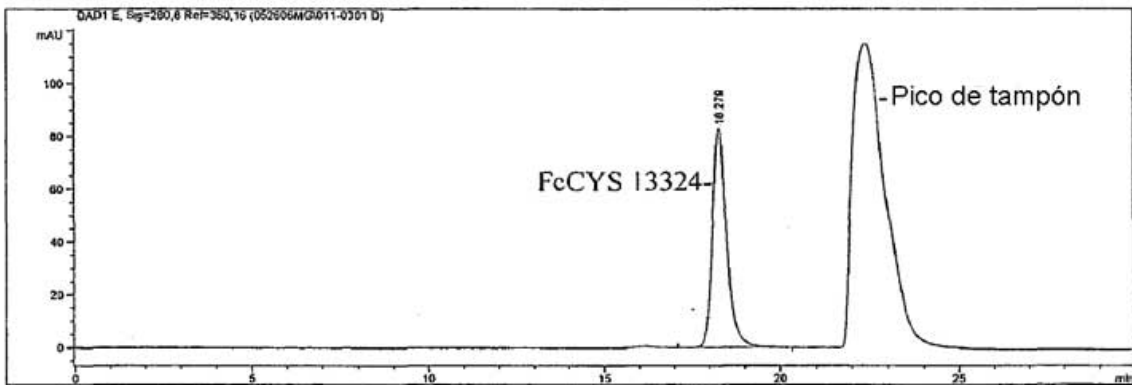


FIGURA 7

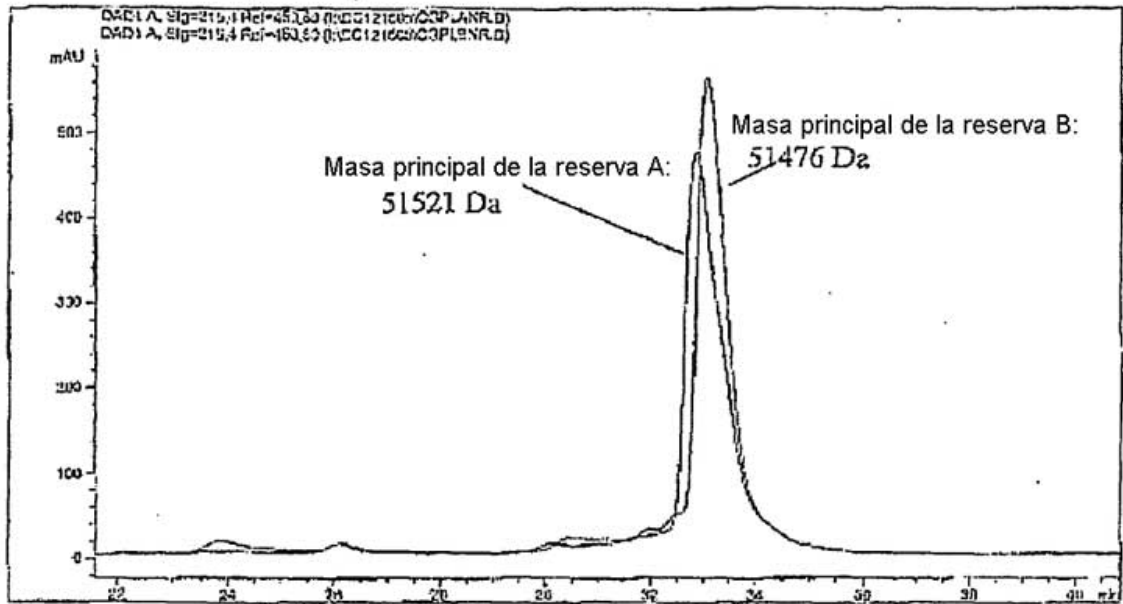


FIGURA 8A

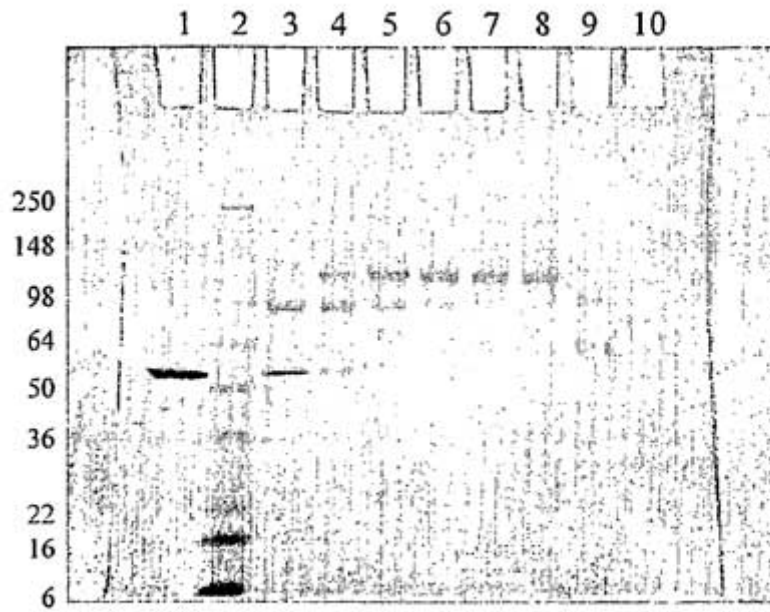


FIGURA 8B

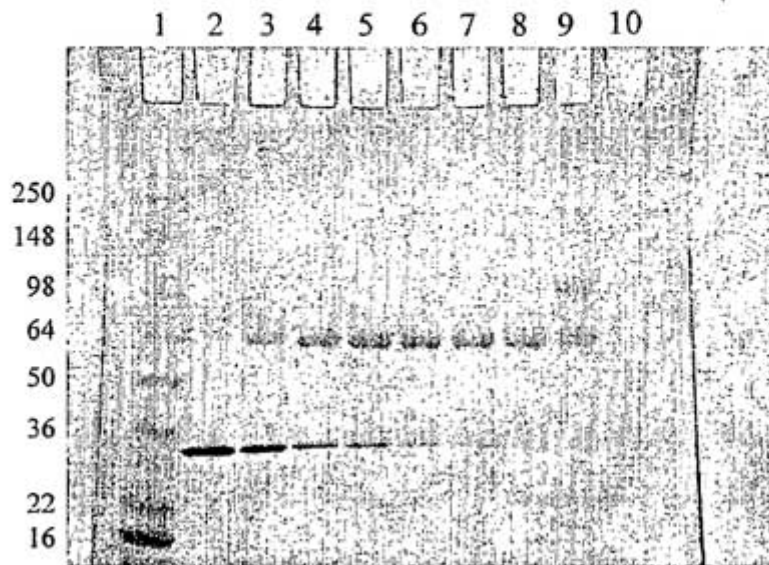


FIGURA 9

